

Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik Marburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Hamelmann

ISOLIERTE AUTOPERFUSION VON HERZ UND LUNGE
BEI HUNDEN UND SCHWEINEN

EIN BEITRAG ZUR BIOCHEMISCHEN UND
MORPHOLOGISCH-HISTOLOGISCHEN DEFINITION DIESES
WIRTSKREISLAUFSYSTEMS FÜR NORMOTHERME
KONSERVIERUNG ANDERER ORGANE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

DIETER MERLE
aus Alertshausen

Marburg 1974

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik Marburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Hamelmann

ISOLIERTE AUTOPERFUSION VON HERZ UND LUNGE
BEI HUNDEN UND SCHWEINEN

EIN BEITRAG ZUR BIOCHEMISCHEN UND
MORPHOLOGISCH-HISTOLOGISCHEN DEFINITION DIESES
WIRTSKREISLAUFSYSTEMS FÜR NORMOTHERME
KONSERVIERUNG ANDERER ORGANE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

DIETER MERLE

aus Alertshausen

Marburg 1974

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg/L. am 5. April 1974
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. med. E. Struck
Correferent: Prof. Dr. med. H. Hamelmann

MEINEN ELTERN

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

	Seite
1. <u>EINLEITUNG</u>	
1.1. Einleitung	1
1.2. Historische Vorbemerkungen	1
1.3. Problematik	4
2. <u>METHODIK</u>	
2.1. Tiermaterial	6
2.2. Perfusionsmedium	7
2.2.1. Allgemeines	7
2.2.2. Gewinnung von Vollblut	7
2.2.3. Spezieller Mediumsanteil	10
2.2.4. Infusion	14
2.3. Operationstechnik	15
2.3.1. Allgemeines	15
2.3.2. Prämedikation und Narkose	16
2.3.3. Operationsschritte	17
2.4. Perfusionsanlage	21
2.4.1. Organkammer	21
2.4.2. Blutreservoirs	23
2.4.3. Geräte, Schlauchsystem	25
2.4.4. Komplette Perfusionsanlage	28
2.5. Biochemische Analysen	30
2.5.1. Allgemeines	30
2.5.2. Blutgasanalysen	30
2.5.3. Enzymbestimmung	31
2.5.4. Bestimmung anderer Metabolite	32
2.5.5. Elektrolyte	34
2.5.6. Sektion und histologische Untersuchungen	34
2.5.7. Statistische Berechnungen	35

3.	<u>ERGEBNISSE</u>	Seite
3.1.	Operationsphase	36
3.1.1.	Blutgase	36
3.1.2.	Herztätigkeit	36
3.1.3.	Operationszeit	37
3.2.	Perfusionsphase	38
3.2.1.	Temperaturen	38
3.2.2.	Herztätigkeit	38
3.2.3.	Druckverhältnisse	40
3.2.4.	Perfusionsdauer	41
3.3.	Biochemische Analysen	43
3.3.1.	Blutgase	43
3.3.2.	Enzyme	47
3.3.3.	Elektrolyte	53
3.3.4.	Metabolite des Kohlenhydrat- stoffwechsels	60
3.3.5.	Andere Metabolite	64
3.4.	Morphologie	71
3.4.1.	Grobmorphologische Veränderungen	71
3.4.2.	Sektion	72
3.4.3.	Histologische Untersuchungen	73
4.	<u>DISKUSSION</u>	
4.1.	Besprechung der Perfusionsmethodik hin- sichtlich funktioneller und biochemischer Organveränderungen	76
4.2.	Besprechung biochemischer Veränderungen	83
4.3.	Besprechung der Morphologie	93
4.4.	Besprechung der Hämodynamik	98
4.5.	Ursachen des Perfusionsendes	99
4.6.	Konsequenzen aus den erhobenen Befunden	102
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	104
6.	<u>LITERATUR</u>	106

1.1. EINLEITUNG:

Zur Organkonservierung stehen uns heute zahlreiche einfache und kombinierte Konservierungsverfahren zur Verfügung (29). Als die bei Organtransplantationen gegenwärtig gebräuchlichsten Methoden sind die initiale Schwerkraftperfusion mit anschließender hypothermer Lagerung (eventuell mit Sauerstoffüberdruck) und die Dauerperfusion mit oxygenierendem Pumpsystem zu nennen. Wird die Konservierungsdauer des Organs im ersten System durch zunehmenden Hypoxieschaden begrenzt, so entwickelt sich bei Verwendung von Pumpsystemen das Risiko der Hämolyse durch mechanische Traumatisierung des Perfusats.

Ein Verfahren, das sich ohne diese Nachteile zu brauchbarer Organkonservierung eignet und sich eng an die physiologischen Verhältnisse im lebenden Organismus anlehnt, ist die Durchströmung der Organe mit oxygeniertem Vollblut oder erythrozytenhaltigen Lösungen bei Normothermie (normotherme Dauerperfusion). Ihre Anwendung erlaubt nicht nur die dauernde Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nahrung, sondern auch einen kontinuierlichen Abtransport der Stoffwechselschlacken. Da die Gefahr hypoxischer Organschädigung hierbei innerhalb eines begrenzten Zeitraumes von einigen Stunden sehr gering ist, erscheint sie als kurzzeitige Konservierungsmethode für den klinischen Gebrauch besonders geeignet.

Die normotherme Dauerperfusion kann wie folgt ausgeführt werden:

1. Als arterielle Schwerkraftperfusion mit Sauerstoffversorgung durch einen Oxygenator;
2. als pulsatile Perfusion mit einem oxygenierenden Pumpsystem;
3. als gemischt pulsatile und Schwerkraftperfusion mit dem Herzen des Spendertieres als 'physiologische' Pumpe und der Lunge als 'physiologischer' Oxygenator.

Der Übergang der in vivo-Funktion in den des extrakorporalen Kreislaufs erfolgt bei den genannten Verfahren nach hypothermer Auswaschung der Organe zur Herabsetzung der Stoffwechselaktivität. Sowohl die Verwendung eines Herz-Lungen-Präparates (HLP) als auch seine Funktion für andere Organe bietet den entscheidenden Vorteil eines kontinuierlichen ischämiefreien Überganges der in vivo-Funktion in die der extrakorporalen Konservierung.

1.2. Historische Vorbemerkungen:

Schon relativ früh beschäftigte man sich mit der normothermen Perfusion von Organen. Speziell das Herz stand gegenüber anderen Organen zu Beginn im Mittelpunkt des Interesses.

1881 untersuchte RINGER als erster anhand der Perfusion von Froschherzen den Effekt isotoner Salzlösungen auf den Herzschlag (36). Eine der zuerst beschriebenen Perfusionstechniken war die von LANGENDORFF aus dem Jahre 1895 (28). Sie bestand aus einem Reservoirgefäß für Perfusionsmedium und einem syphonartigen Schlauch, der mit dem Organ verbunden war. Das System war offen, so daß ständig neues Perfusionsmedium in das Reservoirgefäß nachgegeben werden mußte.

Im Jahre 1912 stellten KNOWLTON und STARLING ein System vor, das eine Autoperfusion des Herzens erlaubte (24). Dem linken Ventrikel wurde über einen Schlauch Blut entnommen, das über einen einstellbaren und meßbaren peripheren Widerstand ein syphonartiges System passierte, in dem die Auswurfmenge des Herzens kontrolliert werden konnte. Von hier floß das Blut über ein Blutreservoir in das rechte Herzohr zurück. Dieses STARLING-Präparat konnte schon damals über mehrere Stunden am Leben erhalten werden.

In den folgenden Jahren versuchte man, zwei oder mehr Organe gleichzeitig zu perfundieren:

1913/14 berichteten MARKWALDER und STARLING über die Perfusion von Herz-Lungen-Präparaten (HLP), anhand derer sie

die Physiologie der Koronardurchblutung studierten (32). Weitere physiologische Untersuchungen an Herz-Lungen-Präparaten folgten: In den Jahren 1926 und 1928 veröffentlichte ANREP interessante Ergebnisse der Physiologie und Pharmakologie der Herzkranzgefäße (1, 2, 3).

In den Vierzigerjahren dienten Herz-Lungen-Präparate dem Studium des Gaswechsels des Warmblüterherzens (18), der Herzenergetik und der Herzdynamik (19).

Hatte schon STARLING 1918 Herzen ohne Unterbrechung ihrer elektrischen und mechanischen Aktivität aus Tieren isoliert und anschließend perfundiert (43), so fand dieses Verfahren erneute Anwendung durch DEMIKHOV im Jahre 1962 (15).

Die komplizierte Vorrichtung, die im STARLING'schen Präparat den großen Kreislauf ersetzte, fehlte in diesem Präparat. Die Funktion des großen Kreislaufs wurde allein von den Koronargefäßen ausgeübt. Sie bildeten den einzigen Weg, über den der Blutkreislauf aus dem linken Herz in das rechte Herz und von dort über die Lunge zurück in das linke Herz von-statten gehen konnte.

Eine weitere Modifikation des STARLING'schen Herz-Lungen-Präparates veröffentlichte ROBICSEK im Jahre 1963 (37). Abgesehen von dem Koronarkreislauf wurde hier durch Hinzufügen eines Blutreservoirs mit Anschluß an Aorta und Vena cava superior ein zweiter Kreislauf geschaffen, durch den der Koronardruck konstant gehalten und eine gewisse Stabilisierung des Kreislaufs erreicht werden konnte.

Weitere Arbeiten, die auf Experimenten mit der von ROBICSEK angegebenen Modifikation des Herz-Lungen-Präparates basieren, erschienen von YAMADA 1965 (50), TÖRÖK 1972 (47) und FEDELE-SOVA 1973 (17). Viele für die Organkonservierung nützliche Anregungen entsprangen Untersuchungen, die sich mit der Übertragung von Organen auf einen anderen Organismus beschäftigten und schon aus der griechischen Mythologie (Übertragung von verjüngendem Blut auf den alternden Anchisis durch Medea)

und aus Legenden des Mittelalters bekannt sind (41). Intensivere Forschungen begannen erst im 18. Jahrhundert mit der Übertragung von Zähnen durch JOHN HUNTER und später im 20. Jahrhundert mit der Transplantation von Mäusetumoren auf Inzuchtstämme durch JENSEN.

Die Idee der Verwendung des Herz-Lungen-Präparates als Wirtskreislaufsystem für andere Organe wurde in der Zeit der intensiven physiologischen Forschung zu Beginn dieses Jahrhunderts geboren. Es war STARLING, der als erster im Jahre 1925 den Versuch unternahm, eine Niere in das Kreislaufsystem des HLP mit einzubeziehen, um an ihm die Urinsekretion der Niere genauer zu studieren (44).

Manche der damals gewonnenen Techniken und Erkenntnisse erfuhren in den letzten Jahrzehnten in der Organkonservierung und Organtransplantation eine Wiederbelebung. Der Versuch STARLING's, die Autoperfusion dreier Organe, wurde bislang nicht fortgesetzt.

1.3. Problematik:

Während die Organperfusion in ihren Anfängen der Erforschung der Physiologie einzelner isolierter Organe oder Organgruppen diente, gewann sie in den letzten Jahrzehnten auch an Bedeutung für die Organkonservierung. Vor allem die normotherme Dauerperfusion als eine Möglichkeit der Organkonservierung stieß auf zahlreiche Schwierigkeiten (hypotherme Konservierungsmethoden waren technisch und methodisch einfacher zu handhaben). Es zeigte sich, daß die Erhaltung normothermer physiologischer Versuchsbedingungen aufwendige technische Apparaturen und Kontrollen notwendig machte. So wurde die Forderung nach der Wahl einer traumafreien Perfusionsapparatur laut, die die Aufrechterhaltung einer bakterienfreien Perfusionslösung sowie die Anwendung eines geeigneten Perfusionsdruckes erlauben sollte (23).

Ein wichtiger Faktor ist die Verwendung einer geeigneten Perfusionslösung. Während bei hypothermen Konservierungsverfahren ein Perfusat vor allem gewebsschonend, einfach zusammengesetzt sowie ein guter Träger für Sauerstoff darstellen sollte, wird von einer für normotherme Organkonservierung bestimmten Perfusionslösung eine Zusammensetzung gefordert, die sich der des Vollblutes möglichst weit annähert. Nur mit solchen Medien können in vitro Ergebnisse erzielt werden, die denen in vivo vergleichbar sind (28, 35). Das bedeutet, daß bei längerer Perfusion die Substitution bestimmter Substanzen - wie Nährstoffe und Wirkstoffe - notwendig wird.

Ein Ansteigen schädigender Metabolite (harnpflichtiger Substanzen etc.) wird auf der anderen Seite besonders bei Fehlen entgiftender Organe im Perfusionskreislauf ein Wechsel der Perfusionslösung nach möglicherweise einigen Stunden erforderlich machen (47, 50).

Für die bei isolierter Organperfusion auftretenden morphologisch-histologischen und biochemischen Veränderungen machte man neben anderen Faktoren eine Änderung der Mikrozirkulation und Membranpermeabilität verantwortlich. Außerdem sind spezifische Einwirkungen der isolierten Lagerung sowie solche der verwendeten Perfusionslösung noch unklar und bedürfen der weiteren Abklärung.

Die wissenschaftlichen Erkenntnisse und Definitionen über Organe speziell unter isolierten 'Lebensbedingungen' sind besonders im Hinblick auf die Organkonservierung für klinische Belange unzureichend. Im Zusammenhang mit der experimentellen Organtransplantation sollen im Folgenden die Bedingungen eines Perfusionssystems und die darauf einwirkenden Störfaktoren für die isolierte, normotherme Dauerperfusion von Herz und Lunge erarbeitet werden. Außerdem soll zur Verbesserung der mechanisch-technisch-apparativen Strömungsbedingungen sowie zur biochemischen und morphologisch-histologischen Definition des Organsystems beigetragen werden.

2. METHODIK:

2.1. Tiermaterial:

In 25 Experimenten wurde eine normotherme Perfusion von Herz und Lunge durchgeführt. Davon dienten in 18 Experimenten H u n d e männlichen und weiblichen Geschlechts als Spendertiere. Die Tiere hatten ein mittleres Gewicht von $19,5 \pm 16,7$ kg. Sie gehörten verschiedenen Rassen an. In weiteren 7 Experimenten wurden S c h w e i n e verschiedenen Geschlechts mit einem Gewicht von $22 \pm 12,3$ kg verwendet. Die Tiere kamen aus der gleichen Zucht.

Hinsichtlich der Methodik wurden die Perfusionsversuche in folgende Serien unterteilt (Tab. 1):

Serie A: Versuchstier war der Hund. Als Perfusionsmedium wurde homologes Blut verwandt, das mit dem gleichen Volumen eines speziellen Mediums aus Ringer-Lösung, Gelatine, Dextran und anderen Zusätzen (vgl. Tab. 3) vermischt wurde. Bei der Operationstechnik wurde derart verfahren, daß die Organe zunächst durch Kanülierung der Aorta teilweise an das Perfusionssystem angeschlossen und dann extrakorporal gelagert wurden. Der Anschluß an die Vena cava folgte. Die Perfusion der Organe wurde in Form einer pulsatilen, normothermen Dauerperfusion in Kombination mit einer Schwerkraftperfusion ausgeführt.

Serie B: Versuchstier war hier ebenfalls der Hund. Das Perfusionsmedium enthielt kein Dextran. Albumin, Streptokinase und Glukagon wurden zusätzlich in die Perfusionsflüssigkeit aufgenommen. Bei der Operation wurde das Perfusionssystem vollständig vor der extrakorporalen Lagerung an die Organe angeschlossen.

Serie C: Als Versuchstier wurde hier das Schwein verwendet. Dem Perfusionsmedium wurde zusätzlich zur Serie B Dextran mit einem Molekulargewicht von 40 000 sowie Prednisolon zu-

gesetzt. Operation und Perfusion entsprachen den Gegebenheiten der Serie B, ebenso die Verwendung neuer Blutreservoirs, einer anderen Organkammer und einer Reihe weiterer Geräte.

2.2. Perfusionsmedium:

2.2.1. Allgemeines:

Das zur Perfusion der Herz-Lungen-Präparate verwandte Medium war zusammengesetzt aus 2 Grundlösungen: **V o l l b l u t** (Spezies Hund bzw. Schwein) und einem **s p e z i e l l e n M e d i u m s a n t e i l**, der aus mehreren Komponenten bestand. Beide Grundlösungen wurden in einem Mischungsverhältnis von 1 : 1 verwandt.

2.2.2. Gewinnung von Vollblut:

Die Gewinnung von Vollblut aus Schweinen erfolgte nach 2 Methoden:

Einerseits wurde versucht, während der Operation aus dem Versuchstier selbst möglichst viel Blut zu gewinnen. Dazu wurden nach Anschluß der Herz-Lungen-Präparate (HLP) an den arteriellen Teil des Perfusionssystems die übrigen in die Peripherie führenden großen Gefäße des Tieres unterbunden und durch gleichzeitige Tieflagerung der oberen Körperhälfte eine bessere Rückführung des in der Peripherie befindlichen venösen Blutvolumens zum Herzen hin ermöglicht, von wo aus es in den arteriellen Teil des Perfusionssystems übernommen wurde.

Da sich die aus den Versuchstieren erzielten Blutvolumina für längere Perfusionszeiten als zu gering erwiesen, wurde es notwendig, frisches, aus eben geschlachteten Schweinen gewonnenes Blut zu verwenden, welches in vorher gereinigten und sterilisierten Polyäthylenflaschen aufgefangen wurde.

TIERSPEZIES

Serie A: Hunde

Serie B: Hunde

Serie C: Schweine

PERFUSIONSMEDIUM

Serie A: Homologes Blut und spezieller Mediumsanteil
im Verhältnis 1 : 1.

Spezieller Mediumsanteil: Dextran 60.000,
Gelatinelösung, Ringerlösung, Heparin, Insulin,
Glukose, Penicillin, Ausgleich mit NaHCO_3 auf
pH 7,4.

Serie B: Vgl. Serie A. Kein Dextran. Zusätzlich Albumin,
Streptokinase und Glukagon.

Serie C: Vgl. Serie A. Zusätzlich Dextran 40.000, Albumin,
Streptokinase, Glukagon, Prednisolon.

OP-TECHNIK

Serie A: Methodik nach ROBICSEK. Teilanschluß des Per-
fusionssystems in vivo, extrakorporale Lagerung,
Anschluß der venösen Blutreservoirs an die Vena
cava inferior.

Serie B: Methodik nach STARLING, DEMICHOV, ROBICSEK.
Vollständiger Anschluß des Perfusionssystems in
vivo. Anschluß an Aorta, Truncus brachiocephali-
cus und Vena cava superior.

Serie C: Vgl. Serie B.

PERFUSIONSTECHNIK

Serie A - C: Pulsatile, normotherme Dauerperfusion
(arteriell), kombiniert mit Schwerkraft-
perfusion (venös).

Tab. 1: Einteilung der Perfusionsversuche in 3 Gruppen
aufgrund methodischer Unterschiede hinsichtlich
Tierspezies, Perfusionsmedium, Op-Technik und
Perfusionstechnik.

Jeder 1000 ml Volumen fassenden Polyäthylenflasche wurden vor Zugabe des Blutes hinzugegeben:

20 ml	NaCL
10,000 IE	Heparin
25,000 IE	Streptokinase
1 g	Glukose

zur Unterbindung der Blutgerinnung (Heparin), Auflösung von eventuell entstandenen Thromben (Streptokinase) und Glukose zur Aufrechterhaltung einer gewissen Nährstoffmenge bei der Lagerung.

Der Inhalt der gefüllten Flaschen wurde sorgfältig durchmischt und in einen Kühlschrank bei 4⁰ C aufbewahrt. Die Dauer der Aufbewahrung bis zu Versuchsbeginn betrug 2 bis 12 Stunden.

Die Gewinnung von Vollblut aus Hunden geschah derart, daß in der Serie A den Versuchstieren während der Operation aus dem arteriellen Blutkreislauf Blut entnommen und in einem arteriellen Blutreservoir (Polyäthylenflasche) aufgefangen wurde. Dazu wurde die Aorta im Bereich des Überganges in die Pars descendens kanüliert und das Blutreservoir durch Tieferhalten gefüllt, wobei auf die Aufrechterhaltung eines, wenn auch für kurze Zeit niedrigeren arteriellen Druckes geachtet werden mußte. Ein Teil des sich in dem arteriellen Blutreservoir befindlichen Blutvolumens wurde zur Füllung des venösen Blutreservoirs (ebenfalls eine Polyäthylenflasche) verwandt.

In der Serie B der Perfusionsversuche am Hund glich die Entnahmetechnik derjenigen, wie sie unter 2.2.2. beschrieben ist.

Zusätzlich wurde Blut durch eine einmalige Entnahme von 500 bis 1000 ml bei gesunden Hunden gewonnen. Hierzu wurde

eine Halsvene punktiert und das Blut in "blood pack units IH (500 ml)" der Firma Travenol Laboratories gefüllt. Gegen Ende der Entnahme bekamen die Tiere zur Volumensubstitution 500 bis 1000 ml eines Plasmaexpanders (Haemaccel^(R) oder Makrodex^(R)) (vgl. Tab. 2) infundiert.

Die Blutentnahmen bei den Hunden fanden jeweils kurz vor dem eigentlichen Versuchsbeginn statt. Deshalb betrug die Zeit der Aufbewahrung des Blutes bei Raumtemperatur maximal 2 - 3 Stunden bis zum Versuchsbeginn.

2.2.3. Spezieller Mediumsanteil:

Neben dem Vollblut wurde ein den normothermen Perfusionsbedingungen angepaßtes Medium verwendet, das in seiner Zusammensetzung einen möglichst physiologischen Blutersatz darstellen sollte. Die verschiedenen Komponenten und ihre Dosierung sind der Tab. 3 zu entnehmen.

Als Lösungsmittel wurde zur Verbesserung des kolloidosmotischen Druckes neben Dextranlösungen verschiedenen Molekulargewichts sowie Gelatinelösungen auch Albumin verwandt. Der Anteil an Ringerlösung diente dem Ersatz an Elektrolyten und der Volumenauffüllung.

Neben diesen Flüssigkeiten enthielt das Perfusionsmedium eine Reihe von Zusätzen:

Heparin zur Gerinnungshemmung, Streptokinase zur Aktivierung der Fibrinolyse, Glucose als Kalorienträger und Penicillin zur antibiotischen Abdeckung. Insulin wurde aufgrund seiner fördernden Eigenschaften bei der Verteilung der Glucose und seiner Metabolite in die Gewebe angewandt, um eine schnellere und bessere Versorgung der Gewebe mit Kohlenhydraten zu garantieren. Glukagon bewirkt in der angegebenen Dosierung einen erhöhten Umsatz von Lactat und Pyruvat bei gleichem Sauerstoffbedarf und hat eine schwach positiv inotrope Wirkung (42, 27). In der Serie C wurde dem Perfusionsmedium

Tab. 2: Zusammenstellung der verwendeten Medikamente und Lösungen, chemische Zusammensetzung und Hersteller.

1. Arterenol^R; Noradrenalinhydrochlorid 1 : 1000;
Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt/M.-Hoechst,
Brüningstraße 45.
2. Glucosteril^R; 50 %ige Traubenzuckerlösung a 10 ml;
Dr. E. Fresenius KG, Chemisch-Pharmazeutische Industrie, Bad Homburg v.d.H., Gluckensteinweg 5.
3. Glukagon Lilly^R, Glukagon als Hydrochlorid in lyophilisierter Form, Eli Lilly G.m.b.H. Gießen.
4. Haemaccel^R; 3,5 g Polymerisat aus abgebauter Gelatine, 0,038 g KCl, 0,85 g NaCl, 0,25 g Kalzium, aqua dest. steril. ad 100 ml;
Behringwerke AG, Marburg/Lahn.
5. Humanalbumin Behringwerke^R; Albuminfraktion des menschlichen Plasmas; Behringwerke AG, Marburg/Lahn.
6. Insulin Hoechst^R; Altinsulin; Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt/M.-Hoechst, Brüningstraße 45.
7. Calcium Sandoz^R; 10 %iges Calciumgluconat a 10 ml;
Sandoz AG, Nürnberg, Deutschherrnstraße 15.
8. Liquemin^R; 2500 I.E. Heparin pro ml;
Deutsche Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden,
Emil-Barell-Straße 1.
9. Makrodex^R; 6 %ige Lösung aus Dextran 60 000;
Knoll AG, Chemische Fabriken, Ludwigshafen,
Knollstraße 50.
10. Nembutal^R; Pentobarbital-Natrium, Deutsche Abbott G.m.b.H., Ingelheim/Rhein.
11. Penicillin Grüentahl^R; wasserlösliches Penicillin-G-Natrium, 20 Mega; Chemie Grüenthal G.m.b.H., Stolberg/Rheinland, Steinfeldstraße.

12. Ringerlösung DAB 6 Braun^R; 138,2 mval Natrium, 1,34 mval Kalium, 1,8 mval Kalzium, 140,1 mval Chlorid, 1,2 mval Bikarbonat.
B. Braun, Melsungen, Carl-Braun-Straße 1.
13. Rheomakrodex^R; 10 %ige wässrige Lösung eines niedermolekularen Dextrans (40 000) mit 0,9 % Natriumchlorid.
Knoll AG, Chemische Fabriken, Ludwigshafen, Knollstraße 50.
14. Streptase^R; gereinigte Streptokinase aus dem Kulturfiltrat hämolytischer Streptokokken der Gruppe C; Injektionsflaschen mit 100 000 Ch. Einheiten; Behringwerke AG, Marburg/Lahn.
15. Ultracorten^R H 'wasserlöslich'; Prednisolonnatriumtetrahydrophthalat a 25 mg Trockensubstanz; Ciba AG, Wehr/Baden, Öflinger Straße.

R = Eingetragenes Warenzeichen

	Serie A	Serie B	Serie C
Homologes Blut (ml)	500	500	500
Dextran 60 000 (ml)	125	-	-
Dextran 40 000 (ml)	-	-	125
Gelatine (ml)	125	150	125
Humanalbumin (ml)	-	100	100
Ringerlösung ad(ml)	1000	1000	1000
Heparin	10 000 IE	10 000 IE	10 000 IE
Insulin	10 IE	20 IE	20 IE
Streptokinase	-	100 000 IE	250 000 IE
Glukagon	-	3 mg	3 mg
Glukose	1 g	1 g	1 g
Penicillin	20 Mega	20 Mega	20 Mega
Prednisol	-	-	0,25 mg
NaHCO ₃ -Ausgleich	pH 7,4	pH 7,4	pH 7,4

Tab. 3: Zusammensetzung des Perfusionsmediums in den Serien A, B und C.
Angabe der Komponenten in ml/1000 ml Perfusionsmedium, wenn nicht anders angegeben.

Prednisolon zur Membranstabilisierung zugegeben. Nach Beifügen aller in Tab. 3 aufgeführten Lösungen und Medikamente wurde das Perfusionsmedium mit Natriumbikarbonat auf pH 7,40 abgepuffert. Die zuzugebende Menge an Natriumbikarbonat wurde aufgrund des Base-Excess nach einem Verfahren von ASTRUP (4, 5, 6) berechnet. Die benötigten Mengen betrugen 20 - 30 ml, je nach dem pH-Wert der Blutersatzlösungen, deren Wasserstoffionenkonzentration und Elektrolytgehalt - wie Ergebnisse von CRUBER zeigen - von Präparat zu Präparat sehr schwanken.

2.2.4. Infusion:

Während der Perfusion wurde kontinuierlich in der Serie C eine Infusionsbehandlung durchgeführt, deren Ziel im wesentlichen auf eine Prophylaxe und Therapie einer Herzinsuffizienz hin ausgerichtet war. Wie die Tab. 4 zeigt, wurden zur Beeinflussung der Herztätigkeit Substanzen gegeben, die eine Änderung der Erregungsbildung und -ausbreitung bedingen oder anders positiv inotrop wirken.

Gelatinelösung	350 ml
Humanalbumin	100 ml
Noradrenalin 1 : 1000	5 ml
Kalzium	50 ml
Glukagon	5 mg
Glucose	20 g

Tab. 4: Komponenten der in Serie C verwendeten Infusionslösung.

Noradrenalin wurde dem sonst üblichen Adrenalin vorgezogen, da es am isolierten Organ aufgrund fehlender nervöser Regulation keine Nebenwirkungen an den Gefäßen

zeigt und im Gegensatz zum Adrenalin einen geringeren Einfluß auf die Glykogenolyse ausübt (26).

Neben einem stark positiven inotropen Effekt besitzt Noradrenalin eine positiv chronotrope, dromotrope und bathmotrope Wirkung und erweitert die Koronarien. Kalziumionen beeinflussen in steigender Konzentration die Herzfunktion positiv inotrop (26), können allerdings in hoher Konzentration andere Qualitäten der Herzfunktion wie Reizbildung und Reizleitung ebenfalls beeinträchtigen. Ferner erhöhen Kalziumionen die Membranstabilität. Zur Versorgung der isolierten Organe mit Nährstoffen diente Glukose. Sie wurde in Form der von vielen Autoren (13, 38) beschriebenen kombinierten Gabe von Glukose und Insulin durchgeführt.

Glukagon wirkt ebenfalls positiv inotrop, erhöht jedoch nicht die Sauerstoffaufnahme des Herzens. Gelatinelösungen wurden gegenüber den Dextranpräparaten aufgrund ihrer guten onkotischen Wirksamkeit und der geringeren Wirkung auf die Blutgerinnung bevorzugt (vgl. Tab. 15). Die Gabe von Albumin diente der Eiweißsubstitution.

Die Dosierung der Infusion richtete sich nach der Höhe des Venendruckes und der Herzfrequenz. Sie wurde so dosiert, daß eine Herzfrequenz von 80 - 120/min resultierte.

2.3. Operationstechnik:

2.3.1. Allgemeines:

In Anlehnung an die Methodik von STARLING, DEMICHOV und ROBICSEK wurden Versuchstieren Herz und Lunge ohne initiale hypotherme Perfusion en bloc entnommen. In der Versuchsserie A wurde die Aorta nach Unterbindung der von ihr im Bereich der Pars ascendens und im Aorten-

bogen abgehenden Arterien noch vor dem Abgang des Truncus brachiocephalicus kanüliert und mit einem arteriellen Blutreservoir verbunden. Herz und Lunge wurden nach Präparation dem Spendertier entnommen und in einer Organkammer gelagert, in der der Anschluß der Vena cava inferior an das venöse Blutreservoir erfolgte (siehe auch unter 3.1.2.).

In den ersten Versuchen kam es während der herznahen Gefäßpräparationen zur Reizung der Herznerven, die eine medikamentös schlecht zu beeinflussende Tachykardie mit nachfolgendem Vorhof- und Kammerflimmern zur Folge hatte. Trotz manueller Herzmassage kam dadurch die Perfusion der Organe nach wenigen Minuten zum Erliegen.

Schwierigkeiten ergaben sich ferner, das Herz mit Elektroschock zu defibrillieren. Meist waren dazu mehrere Schocks notwendig, wobei es in 2 Fällen zu Verbrennungserscheinungen an Perikard und Herzmuskel kam.

In den Versuchsserien B und C hingegen wurden die Organe während der Entnahme in situ vollständig an das Perfusionssystem angeschlossen und dann in eine Organkammer umgelagert. Das periaortale und peritracheale Gewebe wurde hier früh isoliert, aber erst kurz vor der Entnahme des Organpaketes durchtrennt. Durch vorsichtige Präparation konnte in den meisten Fällen eine Herzirritation vermieden werden. So kam es meist nur zu einer Erhöhung der Herzfrequenz bis 160/min, die es gestattete, das HLP unter Selbstperfusion dem Spendertier zu entnehmen.

2.3.2. Prämedikation und Narkose:

Die Prämedikation der Tiere erfolgte 1/2 Stunde vor Operationsbeginn durch intramuskuläre Injektion von 10 mg Diazepam (Valium^(R)). Nach Narkoseeinleitung durch intravenöse Gabe von 7 - 10 ml Pentobarbitalnatrium (Nembutal^(R))

bei Hunden und 7 - 15 ml Pentobarbitalnatrium bei Schweinen wurde eine endotracheale Intubation vorgenommen. Die Beatmung der Tiere erfolgte während der Operation mit einem BENNET-Respirator.

Der Anschluß eines Venenkatheters an die Vena jugularis gestattete die Applikation von Pharmaka und Infusionen. Den Tieren wurde zur Hemmung der intravasalen Gerinnung bei allen Versuchen 2 mg Heparin pro kg Körpergewicht kurz vor Operationsbeginn verabreicht.

2.3.3. Folgende Operationschritte wurden ausgeführt:

Experimente der Serie A

1. Hautschnitt und Sternotomie
2. Eröffnung der Pleurahöhlen
3. Darstellung und Präparation des Truncus brachiocephalicus der linken Arteria subclavia und Arteria carotis. Anschlingen der genannten Gefäße.
4. Darstellung und Präparation der Aorta (Pars ascendens des Aortenbogens und oberen Drittels der Pars descendens)
5. Darstellung der Vena cava inferior. Anschlingen mit einem Faden
6. Unterbinden der unter 3. angegebenen Gefäße
7. Anschlingen der Aorta mit zwei Fäden. Fixation mit dem proximal liegenden Faden. Einsetzen von Gefäßklemmen proximal und distal der Fäden. Längsinzision der Aortenwand. Einlegen eines zum arteriellen Blutreservoir führenden Silikonschlauches mit aufgesetztem Verbindungsstück (vgl. Abb. 1) unter Öffnung der proximalen Gefäßklemme und der Zuleitung zum arteriellen Blutreservoir. Fixation des eingelegten Silikonschlauches
8. Gewinnung von Blut aus dem Versuchstier (vgl. 2.2.3.)

9. Transzision der Trachea und Einlegen eines Tubus in den proximalen Trachealstumpf
10. Unterbinden der Vena cava inferior
11. Herauslösen des HLP aus dem Körper des Tieres.
Unterbindung bzw. Abtrennung der restlichen Gefäßverbindungen. Ablösung von der Unterlage
12. Umlagerung in die Organkammer
13. Einlegen eines vom venösen Blutreservoir kommenden Silikonschlauches in die Vena cava inferior
14. Infusionsbeginn

In den Versuchsserien B und C wurde die Operationstechnik wie folgt geändert:

1. Vgl. 2.3.3.1.
2. Die Eröffnung der Pleurahöhle erfolgte so, daß eine Vernähung der Pleura parietalis von rechts und links über das Perikard erfolgen konnte. Befestigung eines langen Fadens an Perikard und Pleura im Herzspitzenbereich. Mittels beider Fadenenden Fixation des Herzens während der Operation in Thoraxmitte.
Vorteil: Vermeidung von Abknickung von Gefäßen und Herzirritationen
3. Vgl. 2.3.3.3. Hier grobe Darstellung des periaortalen und peritrachealen Gewebes unter besonderer Schonung der Herznerven zur Vermeidung von Herzirritationen
4. Darstellung und grobe Präparation der Aorta, Ablösung der Aorta und Trachea von Oesophagus und hinterer Pleura parietalis. Anschlingen der Aorta mit zwei Fäden
5. Darstellung und Freipräparation der Vena cava inferior. Anschlingen mit zwei Fäden
6. Einlegen eines Venenkatheters in die präparierte und mit Fäden angeschlungene Vena cava superior. Anschluß einer Infusion und Venendruckpumpe (45)

7. Freipräparation des Truncus brachiocephalicus, der Arteria carotis sinistra und der Arteria subclavia sinistra. Anschlingen der genannten Gefäße. Unterbinden der Arteria carotis sinistra und des Truncus brachiocephalicus
8. Verbindung des arteriellen Blutreservoirs mit dem arteriellen Gefäßsystem des Tieres

Zufluß 1 zum	
arteriellen	----- Truncus brachio-
Blutreservoir	cephalicus
Zufluß 2 zum	
arteriellen	----- Aorta, Pars
Blutreservoir	descendens

durch Einlegen der entsprechenden Silikonschläuche mit eingesetzten Verbindungsstücken (Technik vgl. 2.3.3.7.)
9. Verbindung des venösen Blutreservoirs mit dem venösen Gefäßsystem des Tieres

Abfluß venöses	----- Vena cava
Blutreservoir	superior
10. Transzision der Trachea und Einlegen eines Tubus in den proximalen Trachealstumpf
11. Umlagerung des selbstperfundierenden Herz-Lungen-Präparates in die Organkammer



Abb. 1: Einlegen eines Silikonschlauches mit
eingesetztem Verbindungsstück.

2.4. Perfusionsanlage:

Die zur Perfusion des Herz-Lungen-Präparates verwendeten Materialien werden wie folgt beschrieben:

1. Organkammer
2. Blutreservoirs
3. Zusätzliche Geräte und Schlauchsystem
4. Komplette Perfusionsanlage

2.4.1. Organkammer:

Die Aufbewahrung des HLP während der Perfusion erfolgte in der **V e r s u c h s r e i h e A** in einer Schüssel aus rostfreiem Stahl, dessen Boden ein 2,5 cm hoher Einsatz aus Hartplastik bedeckte. Die Schüssel wurde vor Versuchsbeginn 1 - 2 cm hoch mit Ringerlösung gefüllt und von einer thermostatisch regelbaren Heizplatte auf eine Temperatur von 35°C - 40°C angeheizt. Den Hartplastikeinsatz überdeckte ein bei Operationen verwendetes Bauchtuch.

Bei mehreren Experimenten zeigte sich, daß die Heizplatte starken Temperaturschwankungen unterworfen war. So kam es einerseits zu leichten Verbrennungserscheinungen der basal liegenden Lungensegmente. Andererseits sank die Temperatur - bedingt durch Eröffnung der Perfusionskammer - in der Schüssel bis auf 30°C ab, so daß normotherme Bedingungen nicht eingehalten werden konnten.

In den Experimenten der **S e r i e B** wurde deshalb eine **O r g a n k a m m e r** aus Plexiglas verwandt (Abb. 2). Ihr Boden senkte sich zur Mitte hin und stand über eine durchlöchernte Abdeckplatte mit einem Auffangtrichter in Verbindung, der einen Ausfluß nach außen besaß. Der Boden der Organkammer wurde mit einem angefeuchteten Tuch bedeckt. Erwärmt wurden Organkammer und Organe in einer Perfusionskammer (siehe 2.4.3.).

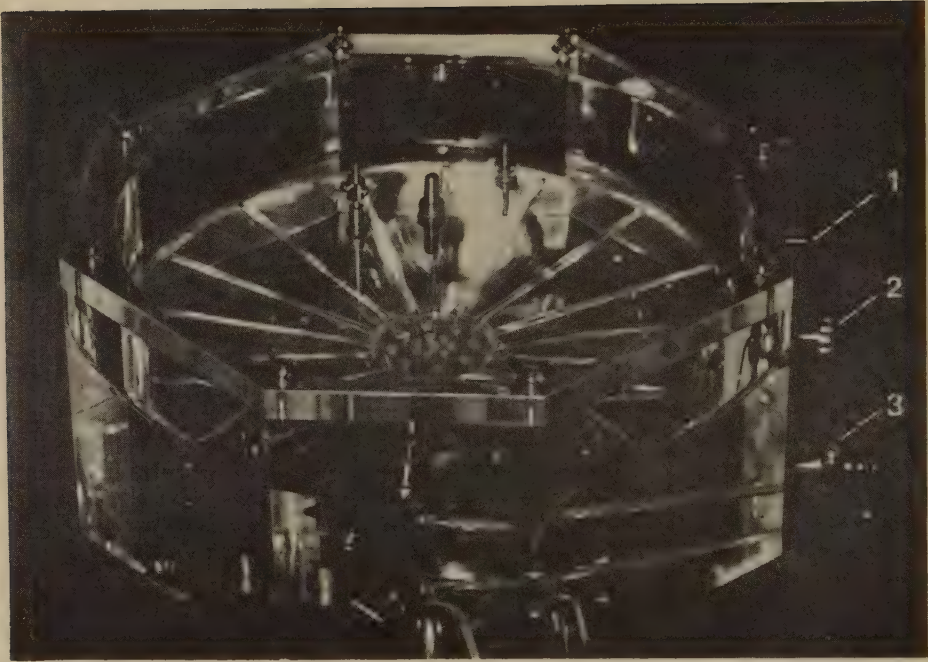


Abb. 2: Organkammer aus Plexiglas.

- 1) Abdeckplatte mit Öffnungen zum Anschluß des Schlauchsystems
- 2) Öffnung für Temperatursonde
- 3) Hahn zum Ablassen des Transsudates

In den Experimenten der *S e r i e C* wurde die gleiche Organkammer verwandt, jedoch wurde ihr Boden mit Ringerlösung bedeckt. In dieser befand sich ein Schlauchsystem, das von einer zentralen Pumpe mit einer 40°C warmen Flüssigkeit durchströmt wurde. Schlauchsystem und Flüssigkeit waren von einem Bauchtuch und mehreren Gaze-Kompressen bedeckt, auf die später das HLP gelegt wurde. Um eine Eintrocknung der Oberfläche der perfundierten Organe zu verhindern, wurden sie mit einem feuchten Tuch geschützt.

2.4.2. Blutreservoirs:

Zur Perfusionsanlage zählten weiterhin ein arterielles und venöses Blutreservoir.

In der ersten Versuchsreihe der *S e r i e A* kamen zwei 1000 ml Polyäthylen-Flaschen der Fa. Braun, Melsungen, zur Anwendung. Jede Flasche wurde möglichst nahe an der Spitze eröffnet und mit derselben an einem Silikonschlauch befestigt, der die Verbindung zum HLP herstellte. Zur besseren Füllung wurde ein Teil des Bodens herausgeschnitten, wobei der Bereich des Aufhängers erhalten blieb.

Für die Experimente der *S e r i e B* und *C* wurden speziell angefertigte Blutreservoirs verwandt (Abb. 3), die sich untereinander nur hinsichtlich des Fassungsvermögens unterschieden.

Das arterielle Blutreservoir konnte maximal 4000 ml, das venöse Blutreservoir 2000 ml Volumen aufnehmen. Beide Gefäße wurden aus Plexiglas gefertigt und mit einem Wassermantel versehen, der es erlaubte, den Inhalt bei gleicher Temperatur zu halten. Der Wassermantel besaß einen Zufluß- und Ausflußstutzen, die beide durch einen Hahn verschließbar waren. Von dem Innengefäß führten 3 Rohre direkt nach außen, die hier ebenfalls verschließbare Hähne und Stutzen aufwiesen.

BLOOD-RESERVOIR FOR THE ORGAN PERFUSION CIRCUIT

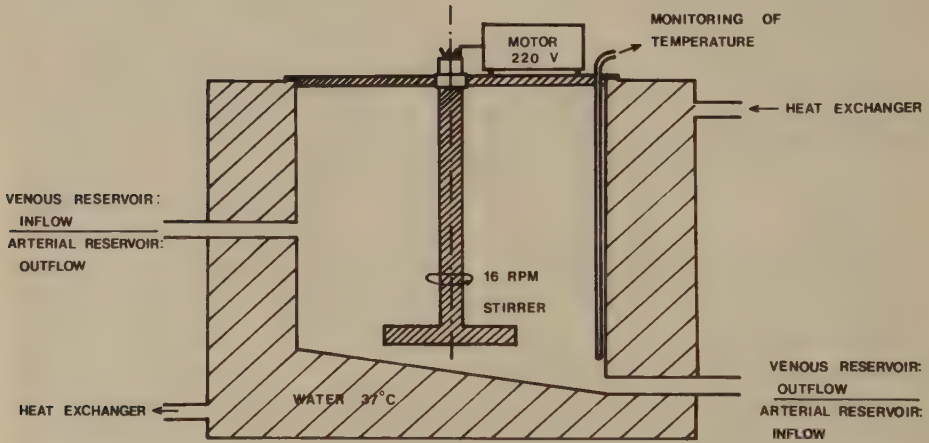


Abb. 3: Querschnitt des arteriellen Blutreservoirs.

Das Innengefäß wurde oben von einem Deckel verschlossen, auf dessen Oberseite ein Elektromotor (220 Volt) und ein Getriebe befestigt waren, welche einen in das Innengefäß ragenden Rotor antrieben. Die Umdrehungszahl des Rotors von 25 - 30/min sicherte eine gute Durchmischung der Perfusionslösung. Jeweils 1/2 Stunde vor Operationsbeginn wurden die Gefäße mit Perfusionslösung gefüllt, so daß eine ausreichende Erwärmung derselben gewährleistet war. Die Temperatur wurde mittels einer Temperatursonde überwacht.

2.4.3. Geräte, Schlauchsystem:

Das H e i z s y s t e m hatte die Aufgabe, Organkammer sowie beide Blutreservoirs zu erwärmen und für die Dauer der Perfusion eine konstante Temperatur des Perfusionsmediums von $36 - 37^{\circ}\text{C}$ zu garantieren. Kern des Heizungssystems war das Pumpenthermostat der Fa. Haake, das neben der thermostatisch vorgewählten Temperatur von 40°C eine dauernde Umwälzung des Heizungswassers erlaubte. Die oben genannten Gefäße waren über Silikonschläuche (Durchmesser 0,75 cm) wie folgt miteinander verbunden. Das Pumpenthermostat war an den Wassermantel des venösen Blutreservoirs angeschlossen und führte über das Schlauchsystem der Organkammer, den Wassermantel des arteriellen Blutreservoirs zum Pumpenthermostat zurück.

Die T e m p e r a t u r m e s s u n g erfolgte mit einem Meßgerät der Fa. ELAB, Kopenhagen, dem 2 Meßsonden angeschlossen waren, von denen die erste die Temperatur des Perfusionsmediums im arteriellen Blutreservoir, die zweite die Temperatur in der Organkammer registrierte.

Die gemessenen Werte wurden in 1/2-stündigem Abstand protokollarisch festgehalten.

In der B e a t m u n g des HLP kamen 2 verschiedene Geräte zur Anwendung:

In den Experimenten der Serie A wurde eine STARLING- B e - a t m u n g s p u m p e (Hersteller: B. Braun, Melsungen) verwandt, deren Beatmungsvolumen und -frequenz beliebig reguliert werden konnten. Gleichzeitig wurde der Einatemungs- luft (normale Zimmerluft) CO_2 -Gas über eine Waschflasche zugegeben, da die für eine ausreichende Mechanik der Lunge erforderliche Beatmungsfrequenz Blutgasverschiebungen im Sinne einer respiratorischen Alkalose zur Folge hatte. Wegen ungenauer Dosierbarkeit des CO_2 -Gases wurden die HLP der Serie B und C über einen B e n n e t - Respirator beatmet. Bei sachgemäßer Einstellung des Gerätes ließen sich größere Blutgasverschiebungen vermeiden.

In der Serie C der Perfusionsversuche wurde die I n f u - s i o n s p u m p e Metec IVP 1000 der Fa. K. Thoma, Frankenthal (45), benutzt. Sie erlaubte eine genaue Dosierung von Medikamenten sowie eine ständige Registrierung des Venendruckes über einen in der Vena cava superior liegenden Venenkatheter. Die Venendrucke wurden in 1/2-stündigem Abstand in die Perfusionsprotokolle übernommen.

In der Serie A wurde aufgrund der Operationstechnik eine Defibrillation des Herzens notwendig. Diese erfolgte mit dem T r e s h h o l d - A n a l y z e r Typ EM 365. Mit dem gleichen Gerät war eine elektrische Stimulation des Herzens möglich.

Zur Verbindung der Blutreservoirs mit Herz und Lunge wurden S i l i k o n s c h l ä u c h e mit einem Durchmesser von 0,75 cm ausgewählt. Neben ihrer Verformbarkeit boten sie den Vorteil einer relativ zellfreundlichen und glatten Oberfläche, wie sie für Perfusionen mit erythrozytenhaltigen Lösungen gefordert wird.

Für das Perfusionssystem waren 4 Silikonschläuche a 90 cm notwendig, von denen 3 an einem Ende mit einem Verbindungs-

stück aus Hartplastik versehen wurden. Dieses Ende diente zum Einlegen in die Gefäße des HLP. Die anderen Enden wurden an den Stutzen der Blutreservoirs befestigt. In einen Schlauch (Verbindung HLP arterielles Blutreservoir) wurde eine T-Abzweigung eingesetzt, die die Entnahme von Proben der Perfusionslösung erlaubte. Der nicht mit Verbindungsstück ausgestützte Schlauch wurde als Überlaufverbindung zwischen arteriellem und venösem Blutreservoir verwandt. Es erwies sich als zweckmäßig, darin einen Durchflußregler einzubauen, der entsprechend dem aus dem Flüssigkeitsspiegel des venösen Blutreservoirs ersichtlichen Flow reguliert werden konnte. Gleichzeitig wurde damit ein nahezu gleichhoher Flüssigkeitsspiegel im arteriellen Perfusionsgefäß aufrechterhalten, der seinerseits einen gleichbleibenden Perfusionsdruck garantierte. 1/2 Stunde vor Operationsbeginn wurden in den Serien B und C die Blutreservoirs und kurz vor Entnahme der Organe sämtliche Schlauchverbindungen gefüllt.

In der Serie A wurde die Perfusionsanlage in einer speziell für Perfusionsversuche angefertigten 110 x 140 cm großen *P e r f u s i o n s k a m m e r* aus Plexiglas untergebracht. Die senkrecht verschiebbare und in bestimmten Höhen fixierbare Front gestattete den Zugang zur Kammer. Über einen thermostatisch regelbaren Heizlüfter konnten Temperaturen von 35°C - 40°C vorgewählt werden. Da zu Beginn der Perfusion mehrmals der Zugang zur Perfusionskammer erforderlich wurde, sank die Lufttemperatur innerhalb der Kammer in kurzer Zeit unter 36°C ab.

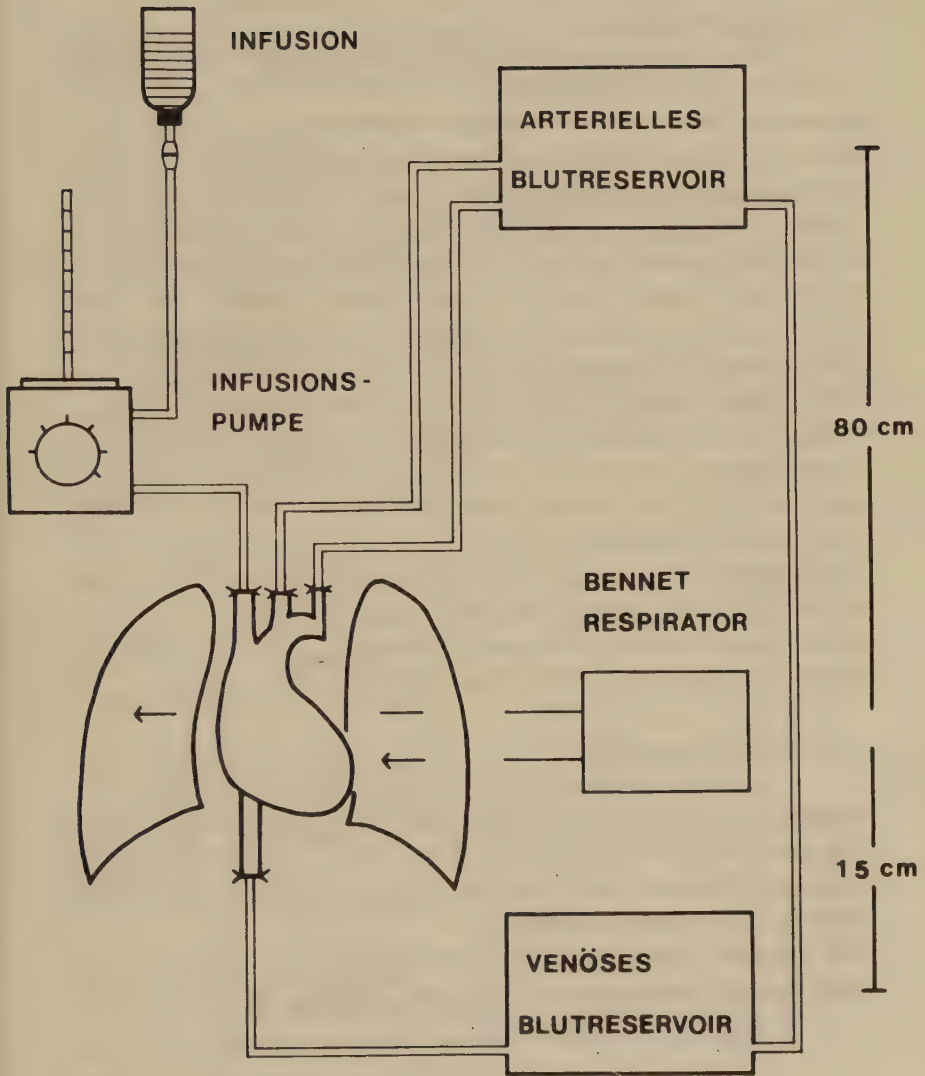
In den folgenden Experimenten der Serie B und C konnte die neue Perfusionsanlage infolge ihrer Weiterentwicklung hinsichtlich der notwendigen Temperaturkonstanz auf einen *M e h r - z w e c k w a g e n* außerhalb einer Perfusionskammer installiert werden. Dieser stand direkt neben dem Operationstisch, so daß die Umlagerung des Organpaketes in die Organkammer ohne Schwierigkeiten vonstatten ging.

2.4.4. Komplette Perfusionsanlage:

Die oben erwähnten Blutreservoirs und das HLP wurden mit Silikonschläuchen zu einem funktionsfähigen Perfusionskreislauf zusammengeschlossen (Abb. 4).

Ausgehend vom linken Ventrikel des Herzens gelangte die Perfusionslösung über einen in die Aorta und Arteria subclavia eingelegten Silikonschlauch in das arterielle Blutreservoir, das in einer Höhe von 80 cm über der mittleren Herzachse stand. Je nach Füllungszustand des Gefäßes wurde so ein arterieller Druck von 60 - 80 mm H₂O garantiert. Von dem arteriellen Blutreservoir floß die Perfusionslösung in das 5 - 15 cm über der Herzachse angebrachte und über ein Tischstativ in seiner Höhe variierbare venöse Blutreservoir. Dieses war über einen weiteren Silikonschlauch mit der Vena cava inferior verbunden, von wo aus die Perfusionslösung über den rechten Vorhof, den rechten Ventrikel und via Lungenkreislauf in den linken Vorhof und den linken Ventrikel gelangte. Alles vom Herzen ausgeworfene Blut passierte den Perfusionskreislauf außer dem Koronarblut.

Neben dieser zentralen Funktionseinheit dienten alle zusätzlichen apparativen Systeme und Geräte (vgl. 2.3.4.) des selbstperfundierenden Herz-Lungen-Präparates der Temperaturkonstanz und der Funktionskontrolle.



**Abb. 4 KREISLAUF DES AUTOPERFUNDIERENDEN
HERZ - LUNGEN - PRÄPARATES**

2.5. Biochemische Analysen:

2.5.1. Allgemeines:

Um sichere Aussagen über biochemische Veränderungen im Verlauf einer Organperfusion machen zu können, ist es notwendig, bestimmte Standardbedingungen einzuhalten. So wurde bei allen Perfusionsversuchen der komplette Anschluß der Organe an das Perfusionssystem als Zeitpunkt des Perfusionsbeginns gewertet. Eine Probe der Perfusionslösung wurde abgenommen, um die zu dieser Zeit herrschenden biochemischen Verhältnisse als Ausgangswerte sichern zu können. In zu Beginn halbstündlich, später stündlich abgenommenen Proben wurden die biochemischen Veränderungen untersucht. Alle Proben wurden sofort auf Blutgasverschiebungen und Hämatokritwert überprüft, die festen Blutbestandteile abzentrifugiert und das Serum für spätere Analysen eingefroren. Ein Teil des Serums wurde sofort für die Messung der Osmolarität verwendet.

Die Abnahme der Proben der Perfusionslösung erfolgte immer an der gleichen Stelle des Perfusionssystems.

Die Untersuchung der Enzyme wurde nach 2 - 4 Tagen nur an frisch aufgetauten Serumproben vorgenommen.

2.5.2. Blutgasanalysen:

Die Bestimmung von pH, Plasma-Bikarbonat, Base-Excess, $p\text{CO}_2$ und $p\text{O}_2$ erfolgte nach der ASTRUP-Methode (4, 5) mit der ASTRUP-Mikroausrüstung Typ AME 1 mit eingebautem Sauerstoffmonitor PHA 928 und der $p\text{O}_2$ -Elektrode Typ E 5046 der Fa. Hillerkus, Krefeld.

Die Angaben erfolgten für Plasma-Bikarbonat in $\text{m}\ddot{\text{a}}\text{q}/\text{l}$, für den Base-Excess in $\text{m}\ddot{\text{a}}\text{q}/\text{l}$, für $p\text{CO}_2$ und $p\text{O}_2$ in mm Hg.

2.5.3. Enzymbestimmung:

Die folgenden Enzyme wurden nach den von der Fa. Boehringer, Mannheim, herausgegebenen Test-Kombinationen bestimmt (48). Im einzelnen wurden untersucht:

Alkalische Phosphatase

Biochemica-Test-Kombination Alkalische Phosphatase, TCP, Bestellnummer 15987 TAAF, Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatasen im Serum (Farb-Test).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)

Monotest^(R) GOT, MO-A, Best.-Nr. 15871 TMAB. Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)

Monotest^(R) GPT, MO-H, Best.-Nr. 15878 TMAC. Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

GLDH (Glutamat-Dehydrogenase)

Biochemica-Test-Kombination GLDH, TC-Y, Best.-Nr. 15995 TGAD. Bestimmung der Glutamat-Dehydrogenase im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

LDH (Lactat-Dehydrogenase)

Biochemica-Test-Kombination LDH, TC-G-I, Best.-Nr. 15977 TLAB. Bestimmung der Aktivität der Lactat-Dehydrogenase im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

SDH (Sorbit-Dehydrogenase)

Biochemica-Test-Kombination SDH, TC-N, Best.-Nr. 15960 TSAB. Bestimmung der Aktivität der Sorbit-Dehydrogenase im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mU/ml.

2.5.4. Bestimmung anderer Metabolite:

Glucose

Biochemica-Test-Kombination Blutzucker, TC-M-I, Best.-Nr. 15982 TBAC. Enzymatische Bestimmung von Blutzucker (Farb-Test, GOD-Methode).
Die Angabe erfolgte in mg/100 ml.

L-Lactat

Biochemica-Test-Kombination L-Lactat, TC-B, Best.-Nr. 15972 TLAA. Bestimmung von L-Lactat im Serum (UV-Test mit NADH).
Die Angabe erfolgte in mg/100 ml.

Pyruvat

Biochemica-Test-Kombination Pyruvat, TC-C, Best.-Nr. 15973 TPAA. Enzymatische Bestimmung der Konzentration von Pyruvat im Serum (UV-Test mit NADP).
Die Angabe erfolgte in mg/100 ml.

Bilirubin

Biochemica-Test-Kombination Bilirubin, TC-BI, Best.-Nr. 15944 TBAA. Bestimmung von Gesamt-Bilirubin im Serum (Farb-Test).
Die Angabe erfolgte in mg/100 ml.

Gesamteiweiß (Biuret)

Biochemica-Test-Kombination Bestimmung von Gesamteiweiß im Serum, Best.-Nr. 15899 (Farb-Test).

Die Angabe erfolgte in g/100 ml.

Osmolarität

Die Osmolarität der Perfusionslösung wurde unmittelbar nach Abzentrifugieren der festen Blutbestandteile mit dem elektronischen Halbmikroosmometer der Fa. Knauer, Berlin, bestimmt. Das Gerät arbeitet nach dem Prinzip der Gefrierpunktserniedrigung.

Die Angabe der Osmolarität erfolgte in mosmol/ml.

Serum-Hämoglobin

Die Bestimmung des freien Hämoglobins im Serum erfolgte nach einer modifizierten Methode von HUNTER, GROVER-RASMUSSEN und SOUTTER mit einem Beckman-Photometer. Dabei wurden 1 ml Serum mit 3 ml 10 %iger NAOH versetzt, wobei aus Hämoglobin alkalisches Hämatin entstand. Der Zusatz einer Spatelspitze Natriumdithionit bewirkte die Umwandlung des alkalischen Hämatins in Hämochromagen. Da das Absorptionsmaximum von Hämochromagen bei 560 Nanometer liegt, kann die Berechnung der Hämoglobinkonzentration nach folgender Formel erfolgen:

$$C_{\text{Serum-Hb}} = (E_{560 \text{ nm}} - E_{580 \text{ nm}}) \cdot 259$$

$C_{\text{Serum-Hb}}$: Konzentration des Serum-Hämoglobins

E_{560} ; E_{580} : Extinktion des Hämochromagens bei 560 und 580 Nanometer.

Hämatokrit

Die Bestimmung des prozentualen Volumenanteils der geformten Bestandteile des Blutes erfolgte mit einer Hämatokritzentrifuge der Fa. ECCO. Hierzu wurden für jede Bestimmung je zwei heparinisierte, dünnwandige

Glaskapillaren für Mikrohämatokritbestimmung der Fa. WU/Mainz (Maße: Durchmesser 1,3 - 1,4 mm, Länge 75 mm) mit Blut gefüllt und an beiden Enden mit Kitt (sealing wax der Fa. Radiometer, Kopenhagen) verschlossen. Anschließend wurden diese 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde der Hämatokrit in dem von der Fa. ECCO mitgelieferten Millimetermaßstab abgelesen.

Die Angabe des Hämatokrits erfolgte in Volumenprozent.

2.5.5. Elektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium):

Die Messung der Elektrolyte erfolgte mit einem Eppendorf-Flammenphotometer nach der Methode von LUNDE-GARDH.

Die Angabe der Werte erfolgte in mval/l.

Magnesium

Merckotest Reagentiensatz zur Bestimmung des Magnesiumgehaltes im Serum, Best.-Nr. 3338/0001 (Farb-Test).

Die Angabe erfolgte in mval/100 ml.

2.5.6. Sektion und histologische Untersuchung:

Nach Beendigung der Perfusion wurden Herz und Lunge auf pathologisch-anatomische Veränderungen hin untersucht. Im wesentlichen wurde dabei neben Änderungen der Organstruktur der Gefäßverlegung durch Thromben erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt.

Gleichzeitig wurden aus verschiedenen Stellen der Organe Gewebeproben zur histologischen Untersuchung entnommen. Die Gewebsstückchen wurden in gepufferter 4 %iger Formalinlösung bis zur lichtmikroskopischen Beurteilung gelagert.

2.5.7. Statistische Berechnungen:

Die experimentellen Ergebnisse der Perfusionsversuche wurden statistisch ausgewertet. Dabei wurden für jede Serie getrennt Berechnungen aufgestellt, die sich auf die Bestimmung des arithmetischen Mittels:

$$\text{Arithmetisches Mittel } \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel

$\sum x$ = Summe der Meßwerte

n = Anzahl der Meßwerte

und der Standardabweichung der Parameter nach 0, 1, 2, 3 Stunden der Perfusion usw. stützten:

$$\text{Standardabweichung } \sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

σ = Standardabweichung

$\sum (x - \bar{x})^2$ = Summe der Quadrate der Abweichungen vom arithmetischen Mittel

n = Anzahl der Meßwerte.

Weiterhin erfolgte ein Vergleich der arithmetischen Mittel zur 1., 2., 3. usw. Perfusionsstunde innerhalb einer Gruppe gegen das arithmetische Mittel zu Beginn der Perfusion nach dem STUDENT'schen t-Test für abhängige Stichproben.

Ein Vergleich der arithmetischen Mittel eines Parameters zum gleichen Zeitpunkt zwischen den Gruppen erfolgte nach

dem STUDENT'schen t-Test für unabhängige Stichproben. War die dabei sich ergebende Irrtumswahrscheinlichkeit $p = 0,05$, konnte die Differenz als signifikant bezeichnet werden.

An dieser Stelle sei dem Rechenzentrum der Universität Marburg/Lahn für die Ausführung der statistischen Berechnungen und Herrn Zöfel für die wertvollen Anregungen und die Unterstützung bei der Durchführung der Berechnungen gedankt.

Weiterhin gilt mein Dank dem Institut für medizinisch-biologische Statistik und Dokumentation sowie Herrn Diplomphysiker Tücke für ihren Beitrag zur statistischen Auswertung dieser Arbeit.

3. ERGEBNISSE:

Anhand der in dem vorigen Kapitel aufgezeigten Methodik wurden mehrere Perfusionen durchgeführt, deren Ergebnisse im Folgenden zusammengestellt sind.

3.1. Operationsphase:

3.1.1. Blutgase:

Die Überprüfung der Blutgase während der Operation zeigte nach Beginn der assistierten Beatmung zunächst eine Acidose. Es wurden pH-Erniedrigungen bis zu pH 7,28 beobachtet. Im weiteren Verlauf der Operation konnte die Reaktion des Blutes im Bereich von pH 7,35 bis 7,45 gehalten werden.

3.1.2. Herztätigkeit:

Erhöhte Aufmerksamkeit während der Operation erforderte die Herztätigkeit. Schon zu Beginn der Präparation der herznahen Gefäße kam es zum zeitweiligen Anstieg der

Frequenz auf 140 - 160 pro Minute. Bei Unterbindung des Truncus brachiocephalicus, der linken Arteria subclavia und Arteria carotis sowie der Aorta zum Zwecke des Einlegens eines Silikonschlauches in diese erfolgte erneut ein starker Anstieg der Herzfrequenz bis 180/min und binnen weniger Sekunden eine starke Füllung des Herzens mit Übergang der Tachykardie in einen plötzlichen Herzstillstand. Verantwortlich für diese Reaktion war der starke Druckanstieg im Herzen durch eine vollständige, wenn auch kurzfristige Unterbrechung des Blutauswurfes. Mit dem erfolgreichen Einlegen des Silikonschlauches in die Aorta war ein Abfluß der gestauten Blutmenge in das arterielle Blutreservoir geschaffen, und so kam es in den meisten Experimenten der Serie A wieder spontan zu einem normalen Herzrhythmus. War dies nicht der Fall, so wurde das Präparat unter vorsichtiger Herzmassage aus dem Versuchstier entfernt und in die Organkammer umlagert. Dort wurde eilends der Anschluß des venösen Blutreservoirs an die Vena cava inferior des HLP vorgenommen. Nach 12 - 15 Minuten Herzstillstand konnte im allgemeinen durch Elektroschock eine Wiederaufnahme der Herztätigkeit erreicht werden.

In den Serien B und C wurde aufgrund der geänderten Operationstechnik die Möglichkeit geschaffen, das Herz ohne Unterbrechung seiner Funktion zu entnehmen. Dies führte zu einer bedeutenden Erhöhung der Zahl der erfolgreichen Perfusionen. Abgesehen von leichten Tachykardien bei der Ablösung des Präparates vom Oesophagus, der Wirbelsäule und dem Diaphragma traten keine Rhythmusstörungen mehr auf. Die gemessenen Herzfrequenzen lagen bei 140 - 160 pro Minute.

3.1.3. Operationszeit:

Die Operationszeit betrug im Mittel 57 ± 31 Minuten. Traten Komplikationen auf, so verzögerte sie sich bisweilen erheblich. Neben Verwachsungen im Bereich des Operationsge-

bietes (Tiere mit überstandener Pneumonie und Pleuritis) sind ursächlich Komplikationen technischer Art und solcher aufgrund intraoperativen Versagens der Herztätigkeit zu nennen.

3.2. Perfusionsphase:

3.2.1. Temperaturen:

Bei der Auswertung der Temperaturen der O r g a n - k a m m e r ergaben sich folgende Ergebnisse:
In der Serie A wurden die stärksten Temperaturänderungen registriert. Während die arithmetischen Mittel zwischen 30°C - 35°C schwankten, wurden Standardabweichungen der arithmetischen Mittel bis zu $\pm 6^{\circ}\text{C}$ errechnet. Die Serie B wies die geringsten Schwankungen auf. Hier differierten die arithmetischen Mittel zwischen 41°C und $42,5^{\circ}\text{C}$. Die höchsten Temperaturen ergaben sich in der Serie C: arithmetische Mittel 43°C - 45°C , Standardabweichungen $\pm 1,8^{\circ}\text{C}$.
Bezüglich der Temperaturen des P e r f u s i o n s m e - d i u m s wurden ähnliche Verhältnisse gefunden. Die Serie A wies - bedingt durch den häufigeren Zugang zur Perfusionskammer - die niedrigste Temperatur aller Serien mit Schwankungen der Mittelwerte von $33,5^{\circ}\text{C}$ - 35°C und Standardabweichungen von $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ - $2,5^{\circ}\text{C}$ auf. In der Serie B lagen die Temperaturen zwischen 35°C und 36°C , in der Serie C stiegen sie von anfänglich 35°C auf 36°C , um sich dann ab der 7. Perfusionsstunde auf 37°C zu erhöhen.

3.2.2. Herztätigkeit:

Anhand der ersten Experimente mit dem HLP war es möglich, die von außen unbeeinflusste Herzaktion zu beobachten. Es konnte festgestellt werden, daß sie zunächst rhythmisch und kraftvoll war. Später verminderte sich die Kraft zunehmend, das Herz dilatierte. Die Autoperfusion

konnte schließlich nur noch unter pharmakologischer Therapie aufrechterhalten werden.

Diese Therapie bestand in der Gabe von Katecholaminen (Noradrenalin) und Kalziumionen. Schon die Zugabe eines Tropfen Noradrenalin 1 : 10 000 in das Perfusionsmedium ließ sowohl die Frequenz als auch die Kontraktionskraft des Herzens sichtbar ansteigen. Das Schlagvolumen wurde erhöht, und der Spiegel der Perfusionsflüssigkeit im arteriellen Blutreservoir stieg rascher an. Die Wirkung hielt einige Minuten unverändert vor und nahm dann langsam wieder ab. Einen ähnlichen, aber nicht so ausgeprägten Effekt zeigte die Gabe von Kalziumionen (1 - 3 ml 10 % Kalziumglukonat). Die Wirkungsdauer erschien jedoch etwas länger als die der Noradrenalingabe zu sein.

Die Ansprechbarkeit des Herzens auf beide Substanzen war abhängig von der schon vorher gegebenen Menge wirksamer Substanzen und von der Perfusionsdauer. In beiden Fällen schien Kalzium einen Vorteil gegenüber Noradrenalin zu besitzen, bei dem es zunächst mit zunehmender Dosierung nur zu leichten, auf lokal begrenzte Myokardbezirke beschränkte arrhythmische Zuckungen und dann ganz plötzlich zu einem gefährlichen Kammerflimmern kam. Kalziumgabe ließ solche Wirkungen nicht erkennen.

Die Ansprechbarkeit in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer war bei Katecholamingabe weniger stark ausgeprägt, da Noradrenalin nach einigen Perfusionsstunden die Kontraktionskraft des Herzens weniger steigern konnte als Kalziumionen. Gut bewährt hat sich die abwechselnde oder gleichzeitige Gabe beider Pharmaka in geeigneter Dosierung. Die Ursache der geringeren Ansprechbarkeit beider Pharmaka bei fortgeschrittener Perfusionsdauer werden an anderer Stelle besprochen (vgl. 3.2.3.).

Aufgrund der pharmakologischen Substitution konnte über den gesamten Verlauf der Perfusion eine kraftvolle Herzaktion aufrechterhalten werden.

Kurz vor dem Aufhören der Herzaktion und dem hämodynamischen Stillstand machten sich Herzirregularitäten bemerkbar, die von Extrasystolen bis zum partiellen Herzblock reichten. Mit dem Auftreten eines Herzflimmerns, in manchen Fällen einer Bradykardie mit nachfolgendem Herzstillstand, kam die Selbstperfusion dann zum Erliegen.

Herzfrequenz

In der Serie A der Perfusionsversuche wurden im Verlauf der Perfusion Frequenzen zwischen 100 und 130 pro Minute gefunden. Bis zur 11. Stunde liegen in der Serie B vergleichbare Werte vor. Danach ist ein Abfall der Frequenzen auf 80 pro Minute festzustellen.

Die Perfusionsversuche der Serie C zeigen vergleichbare Frequenzen zur Serie A. Die maximalen Standardabweichungen in allen Serien betrugen ± 40 .

3.2.3. Druckverhältnisse:

Die Anordnung des arteriellen Blutreservoirs in einer Höhe von 60 - 80 cm über der mittleren Herzachse des HLP erlaubte den Aufbau eines nahezu konstanten arteriellen Druckes. Die Höhe der Blutsäule, die nur durch den Füllungsgrad des arteriellen Blutreservoirs geringfügig verändert wurde, entsprach einem diastolischen Druck von 50 - 60 mm Hg. Die Systole des Herzens erlaubte den Aufbau eines höheren systolischen Druckes. Beide Drucke gestatten eine ausreichende Versorgung der Lungengefäße und der Kranzarterien mit Perfusionsmedium.

Der durch die Höhe des venösen Blutreservoirs resultierende Venendruck wurde entsprechend dem Aussehen und der Funktion des Herzens zwischen 5 mm und 10 mm Hg einreguliert.

Wurde eine stärkere Füllung des Herzens beobachtet und nahm das Schlagvolumen ab (erkenntlich an der Höhe des Spiegels der Perfusionsflüssigkeit in dem arteriellen Blutreservoir), so wurde neben pharmakologischen Maßnahmen auch der Venendruck vorübergehend durch Senken des venösen Blutreservoirs vermindert.

Aus den Versuchen der Serie C liegen Meßwerte des Venendruckes vor. Im Verlauf dieser Versuche konnte festgestellt werden, daß der Venendruck als sehr empfindlicher Indikator der Herzleistung eine Verminderung des Schlagvolumens durch raschen Anstieg unmittelbar anzeigt. So konnte exakt an der Venendruckskala der Zeitpunkt für den Einsatz therapeutischer Maßnahmen abgelesen werden.

Die Meßergebnisse des Venendruckes aus Serie C zeigen einen mittleren Venendruck von 6 mm H₂O bis zur 5. - 7. Perfusionsstunde. Von diesem Zeitpunkt an ist eine stetige Zunahme desselben zu beobachten. Zur Vermeidung einer Überlastung des Herzens wurde die Höhe des venösen Blutreservoirs später vermindert, so daß der absolute Anstieg des Venendruckes nicht mehr datenmäßig erfaßt werden konnte.

3.2.4. Perfusionsdauer:

Von insgesamt 25 Experimenten gelang in 16 Fällen eine Organperfusion. Die Dauer der Perfusionen schwankte zwischen 3 und 15 Stunden. Sie ist für die einzelnen Experimente der Abb. 5 zu entnehmen.

Die mittleren Perfusionszeiten in den einzelnen Serien waren recht unterschiedlich: Die kürzeste wies die Serie A mit 4 Stunden und 40 Minuten, die längste die Serie E mit 11 Stunden und 35 Minuten auf.

Von den restlichen 9 Experimenten mußten 5 bereits während der Operation und 4 innerhalb der ersten 2 1/2 Stunden der Perfusion wegen Versagens der Herztätigkeit sowie technischen Fehlern abgebrochen werden.

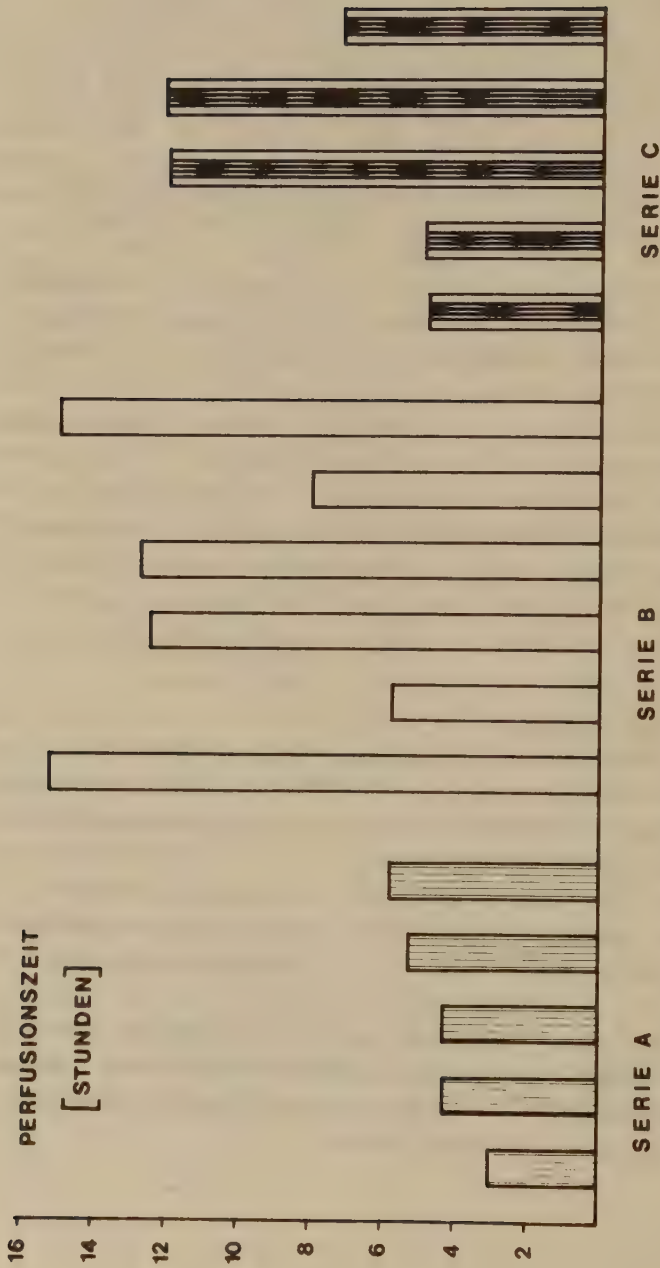


Abb. 5 PERFUSIONSZEITEN IN DEN SERIEN A, B UND C

3.3. Biochemische Analysen:

Im Folgenden sind die Ergebnisse der biochemischen Analysen wiedergegeben. Auf die graphische Darstellung der Ergebnisse der Serie A wurde wegen der kurzen Perfusionszeit verzichtet.

3.3.1. Blutgase:

Die Reaktion der Blutgase ist ein wesentlicher Parameter, der zum Verständnis aller weiteren biochemischen Veränderungen berücksichtigt werden muß.

Die Resultate der über den gesamten Versuchszeitraum aufgezeichneten Blutgase gaben Aufschluß über den Grad der Beatmung der isolierten Organe. Dabei zeigte sich, daß geringfügige Änderungen der Atemfrequenz, des Beatmungsvolumens oder der prozentualen Zusammensetzung der Beatmungsluft zu ausgeprägten Blutgasverschiebungen führten. Zur Erhaltung einer normalen Blutgassituation war eine gegenüber dem lebenden Organismus weitaus geringere Beatmungsfrequenz und ein geringeres Atemvolumen erforderlich. Die geringe Atemfrequenz zog mangels zu geringer Atemmechanik frühzeitige morphologische Veränderungen des Lungengewebes nach sich, die in Serie A nur durch Kohlendioxydanreicherung der Atemluft und in den Serien B und C durch eine feinere Einstellung der Beatmung mit dem Bennet-Respirator und Natriumbikarbonatausgleich vermindert werden konnten.

Die Auswertung der Blutgase ergab in allen Serien eine respiratorisch bedingte Alkalose von pH 7,5. In den einzelnen Serien wurden folgende Werte gemessen: In der Serie A schwankten die pH-Werte zwischen 7,45 und 7,55 bei einem Standardbikarbonat von 12 - 25 mÄq. Die anfänglichen pH-Werte von 7,55 sanken bis zur 3. und 4. Perfusionsstunde auf pH 7,45 ab.

Ähnliche Verhältnisse sind - wie Abb. 6 zeigt - in den Serien B und C zu finden. Interessant zu erwähnen ist der nichtsignifikante Abfall der pH-Werte in beiden Serien zur 9. (Serie C) sowie 10. (Serie B) Perfusionsstunde. Die pO_2 -Werte (s. Tab. 5) der Serie A übersteigen während der gesamten Perfusionsdauer 120 mm Hg. Die Werte der 3. und 4. Perfusionsstunde sind signifikant erhöht ($p < 0,01$, $p < 0,005$).

In der Serie B sinkt der Sauerstoffdruck, ausgehend von 148 mm Hg, auf 95 mm Hg in der 3. Stunde. Dieser Wert wird bis zur 10. Perfusionsstunde aufrechterhalten. Danach ist ein weiterer Abfall auf 70 mm Hg zu beobachten.

Die pO_2 -Werte der Serie C steigen von 180 mm Hg innerhalb der ersten Stunde auf über 300 mm Hg an. Dieser Wert wird bis zur 5. Stunde annähernd beibehalten.

Ein Vergleich der Blutgase der drei Versuchsgruppen untereinander zeigt:

1. Eine respiratorische Alkalose während der gesamten Perfusionsdauer (pH 7,4 - 7,5);
2. einen Abfall der pH-Werte mit zunehmender Perfusionsdauer;
3. unterschiedliche pO_2 -Werte in allen Serien mit abfallenden Werten in Serie B, sehr hohen in Serie C.

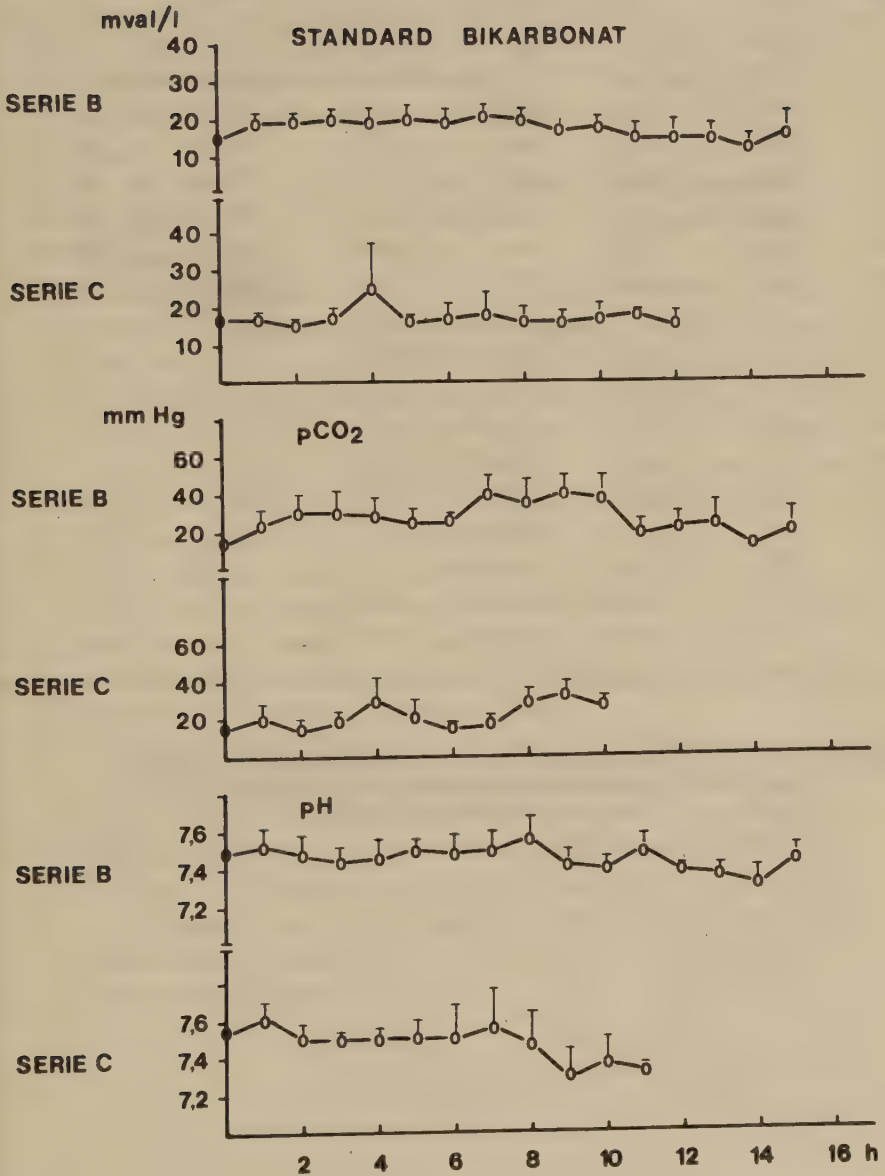


Abb. 6 BLUTGASE DER SERIE B UND C

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	118,5 $\pm$	42,0	148,00 $\pm$	0	183,00 $\pm$	69,09
1	177,5 $\pm$	55,0	121,5 $\pm$	0	342,50 $\pm$	206,53
2	158,75 $\pm$	21,75	94,00 $\pm$	31,11	262,00 $\pm$	185,11
3	<u>209,0</u> ⁺ $\pm$	6,55	95,25 $\pm$	25,1	302,33 $\pm$	171,19
4	<u>193,0</u> ⁺ $\pm$	32,45	86,0 $\pm$	22,62	258,33 $\pm$	244,76
5	182,5 $\pm$	3,54	89,75 $\pm$	17,32	367,50 $\pm$	109,60
6	-	-	92,00 $\pm$	45,25	-	-
7	-	-	92,5 $\pm$	44,54	-	-
8	-	-	90,00 $\pm$	28,28	-	-
9	-	-	82,00 $\pm$	39,59	-	-
10	-	-	90,75 $\pm$	27,22	-	-
11	-	-	72,25 $\pm$	3,18	-	-
12	-	-	70,00 $\pm$	0	-	-
13	-	-	70,00 $\pm$	0	-	-
14	-	-	70,00 $\pm$	0	-	-
15	-	-	70,00 $\pm$	0	-	-

Tab. 5: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichungen σ der Sauerstoffdrucke während der Perfusion in den Serien A, B und C. Angaben in mm Hg.

⁺ statistische Signifikanz.

3.3.2. Enzyme:

Folgende Änderungen der Enzymaktivität wurden im Perfusionsmedium des isolierten HLP gefunden:

GOT Die GOT ist ein Enzym, das vorwiegend im Cytoplasma der Herzmuskulatur angereichert ist. Eine Erhöhung seiner Aktivität ist in allen drei Serien nachweisbar:

In der Serie A findet man einen signifikanten Anstieg von anfangs 20 mU/ml auf 40 mU/ml nach 5 Perfusionsstunden ($p < 0,005$).

Die Verhältnisse in Serie B und C sind in Abb. 7 wiedergegeben. Von unterschiedlichen Ausgangswerten beginnend läßt sich in der Serie B ein deutlicher Anstieg der GOT mit signifikanter Erhöhung aller Werte ab der 3. Perfusionsstunde erkennen. In der Serie C dagegen erscheint der Anstieg der Aktivität im Vergleich sehr gering, obwohl auch hier eine Signifikanz zur 4. und 6. Stunde vorliegt ($p < 0,005$, $p < 0,025$).

GPT Bei dem mehr leberspezifischen Enzym zeichnen sich in allen Serien keine wesentlichen Änderungen vom Ausgangswert ab (s. Tab. 6). Lediglich Serie B hat in der 7., 14. und 15. Perfusionsstunde signifikant erhöhte Aktivitäten ($p < 0,025$, $0,0005$, $0,0005$).

LDH Das ebenfalls in hohem Maße in der Herzmuskulatur, aber auch der Lunge und den Erythrozyten nachweisbare Enzym verzeichnete in den Serien B und C (s. Abb. 7) eine Erhöhung der Serumaktivität, die - in Übereinstimmung mit der GOT - in Serie B erheblich größer ist als in Serie C. Statistisch signifikant gegenüber dem Ausgangswert erweisen sich die LDH-Aktivitäten der 5., 7. und 11. Perfusionsstunde der Serie B.

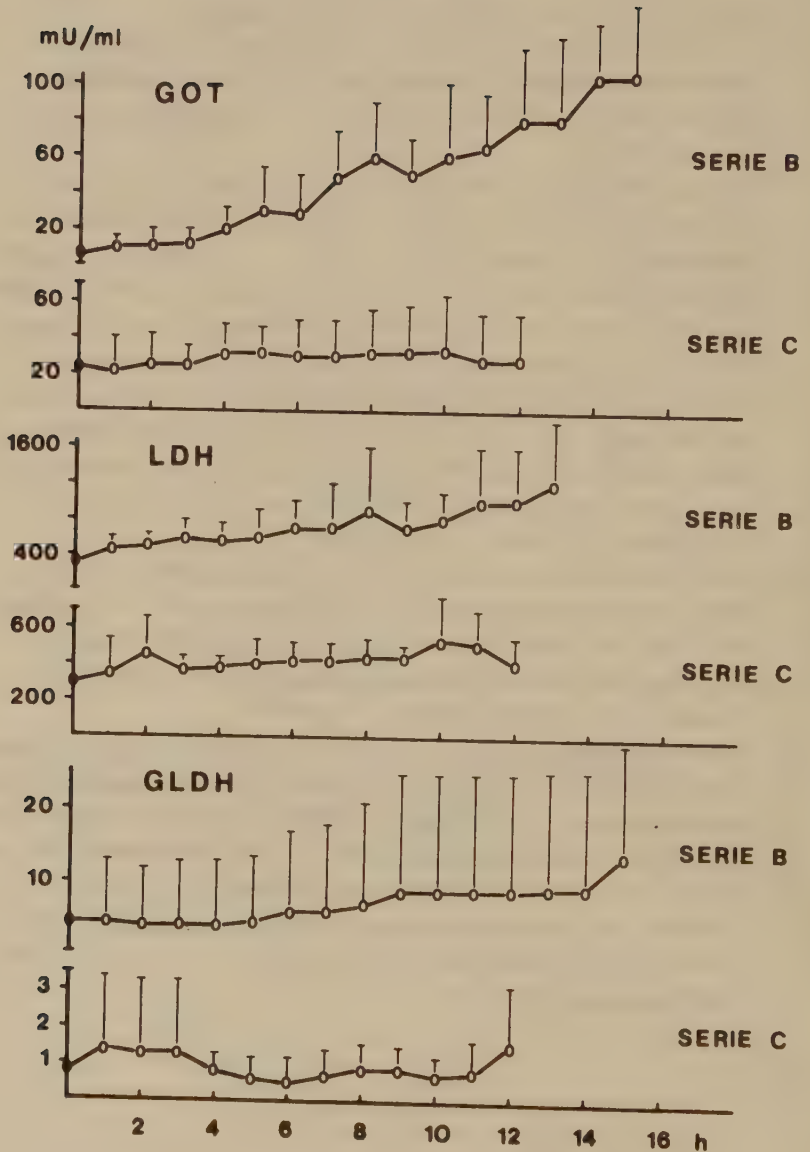


Abb.7 ENZYMSPIEGEL VON GOT, LDH UND GLDH
IN DEN VERSUCHSSERIEN B UND C

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	8,67 $\pm$	4,45	6,86 $\pm$	6,43	7,81 $\pm$	5,06
1	12,26 $\pm$	8,73	6,11 $\pm$	5,57	5,25 $\pm$	2,73
2	13,28 $\pm$	15,34	6,12 $\pm$	5,58	5,18 $\pm$	2,63
3	7,16 $\pm$	2,45	6,35 $\pm$	5,15	4,85 $\pm$	2,08
4	<u>5,42</u> ⁺ $\pm$	1,49	6,47 $\pm$	5,2	6,35 $\pm$	3,62
5	5,28 $\pm$	1,1	8,17 $\pm$	5,19	<u>2,86</u> ⁺ $\pm$	1,43
6	-	-	8,75 $\pm$	5,11	6,25 $\pm$	3,68
7	-	-	<u>10,91</u> ⁺ $\pm$	5,12	3,48 $\pm$	2,18
8	-	-	12,92 $\pm$	7,35	<u>1,88</u> ⁺ $\pm$	0,53
9	-	-	13,05 $\pm$	5,46	<u>2,18</u> ⁺ $\pm$	0,11
10	-	-	12,76 $\pm$	5,06	<u>1,01</u> ⁺ $\pm$	1,41
11	-	-	13,58 $\pm$	3,8	4,35 $\pm$	3,32
12	-	-	13,01 $\pm$	2,97	<u>2,75</u> ⁺ $\pm$	2,47
13	-	-	13,28 $\pm$	1,7	-	-
14	-	-	<u>12,48</u> ⁺ $\pm$	1,37	-	-
15	-	-	<u>12,47</u> ⁺ $\pm$	1,36	-	-

Tab. 6: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichungen σ der GPT in den Serien A, B und C. Angaben in mU/ml.

⁺ statistische Signifikanz.

GLDH Dieses Enzym zeigt in den Experimenten der Serie A einen gleichmäßigen Anstieg von 0,3 (Ausgangswert) auf 1,6 mU/ml nach 5 3/4 Stunden der Perfusion. Die GLDH ist in der Lunge etwa 2 1/2 mal stärker angereichert als in dem Herzen. Seine Aktivitätssteigerung im Perfusat ist in der Serie B größer als in Serie C, denn die Meßwerte der Serie B ergeben einen Anstieg von 9 mU/ml innerhalb von 15 Stunden im Vergleich zu 0,8 mU in Serie C (Abb. 7). Gleichzeitig sind die Enzymaktivitäten zu Beginn der Perfusion unterschiedlich: 5 mU/ml in Serie B, 0,8 mU/ml in Serie C und 0,3 mU/ml in Serie A.

SDH/ Die Messung der Aktivitätsänderungen dieses mehr leber-
ALK. PH. spezifischen Enzyms wie die der alkalischen Phosphatase erfolgte lediglich, um bei einer Erweiterung des selbst-perfundierenden HLP durch ein anderes Organ (Leber, Niere) Vergleichswerte zur Verfügung zu haben, aus denen dann möglicherweise genauere Aussagen über die Art der Herkunft einer erhöhten Enzymaktivität getroffen werden kann. Da die Aktivität der beiden genannten Enzyme in den Geweben von Herz und Lunge äußerst gering ist, wurden keine wesentlichen Aktivitätsänderungen im Perfusat erwartet.

Die experimentellen Daten bestätigen diese Auffassung weitgehend (vgl. Tab. 7 und 8).

Eine abschließende Betrachtung der Änderungen der Enzymaktivitäten ergibt:

1. Einige der untersuchten Enzyme zeigen einen signifikanten Anstieg ihrer Aktivität: GOT, GPT, LDH.
2. Die Aktivitätszunahme der GLDH ist geringer und nicht statistisch signifikant.

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	1,77	$\pm$ 1,27	1,68	$\pm$ 0,8	0,94	$\pm$ 0,92
1	1,7	$\pm$ 1,26	1,57	$\pm$ 0,79	0,82	$\pm$ 0,71
2	2,22	$\pm$ 1,17	1,77	$\pm$ 1,08	0,74	$\pm$ 0,71
3	2,23	$\pm$ 1,39	1,48	$\pm$ 0,92	0,69	$\pm$ 0,88
4	2,15	$\pm$ 1,37	1,37	$\pm$ 0,73	0,72	$\pm$ 0,89
5	2,95	$\pm$ 0,49	1,28	$\pm$ 0,43	0,39	$\pm$ 0,21
6	3,8	$\pm$ 1,69	1,28	$\pm$ 0,43	0,27	$\pm$ 0,29
7	-	-	1,04	$\pm$ 0,72	0,34	$\pm$ 0,25
8	-	-	0,73	$\pm$ 0,59	0,35	$\pm$ 0,35
9	-	-	0,6	$\pm$ 0,08	0,31	$\pm$ 0,41
10	-	-	0,69	$\pm$ 0,21	0,45	$\pm$ 0,21
11	-	-	0,83	$\pm$ 0,04	0,5	$\pm$ 0,14
12	-	-	0,69	$\pm$ 0,21	0,5	$\pm$ 0
13	-	-	0,61	$\pm$ 0,17	-	-
14	-	-	0,61	$\pm$ 0,17	-	-
15	-	-	0,3	$\pm$ 0	-	-

Tab. 7: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichungen σ der SDH in den Serien A, B und C. Angaben in mU/ml.

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	8,2 $\pm$	4,31	5,03 $\pm$	3,21	17,52 $\pm$	10,5
1	7,4 $\pm$	4,64	4,56 $\pm$	3,07	17,0 $\pm$	9,67
2	6,17 $\pm$	4,89	4,56 $\pm$	3,07	15,62 $\pm$	8,64
3	5,73 $\pm$	2,46	4,0 $\pm$	2,54	13,18 $\pm$	7,78
4	10,93 $\pm$	9,47	3,82 $\pm$	1,95	15,42 $\pm$	9,02
5	10,93 $\pm$	9,47	4,56 $\pm$	2,55	16,16 $\pm$	12,45
6	5,1 $\pm$	2,97	5,26 $\pm$	2,4	12,12 $\pm$	12,98
7	-	-	5,06 $\pm$	3,55	20,5 $\pm$	19,19
8	-	-	<u>2,65</u> ⁺ $\pm$	1,41	19,85 $\pm$	25,1
9	-	-	<u>2,65</u> ⁺ $\pm$	1,41	18,75 $\pm$	23,54
10	-	-	3,46 $\pm$	1,47	20,25 $\pm$	25,66
11	-	-	3,23 $\pm$	1,94	19,0 $\pm$	25,73
12	-	-	<u>2,75</u> ⁺ $\pm$	2,47	18,3 $\pm$	25,87
13	-	-	<u>2,75</u> ⁺ $\pm$	2,47	-	-
14	-	-	<u>2,75</u> ⁺ $\pm$	2,47	-	-
15	-	-	2,85 $\pm$	2,33	-	-

Tab. 8: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichungen σ der alkalischen Phosphatase in den Serien A, B und C. Angaben in mU/ml.

⁺ statistische Signifikanz.

3. Eine deutliche Zunahme der Aktivitäten erfolgte nach der 5. - 6. Perfusionsstunde. Die Aktivitätsveränderungen der Serie C sind nur minimal.
4. Das Verhalten der Aktivitäten aller anderen Enzyme ist uncharakteristisch.

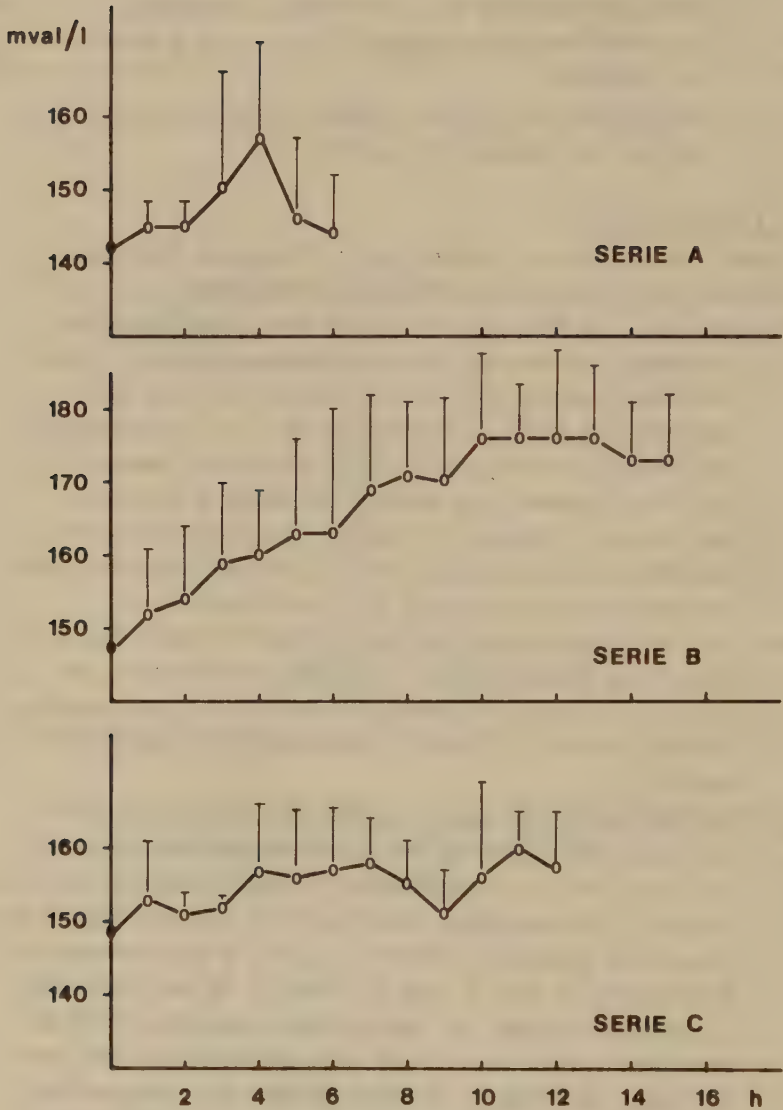
3.3.3. Elektrolyte:

Das Verhalten der Elektrolyte im Perfusat des auto-perfundierenden HLP erbrachte folgende Ergebnisse:

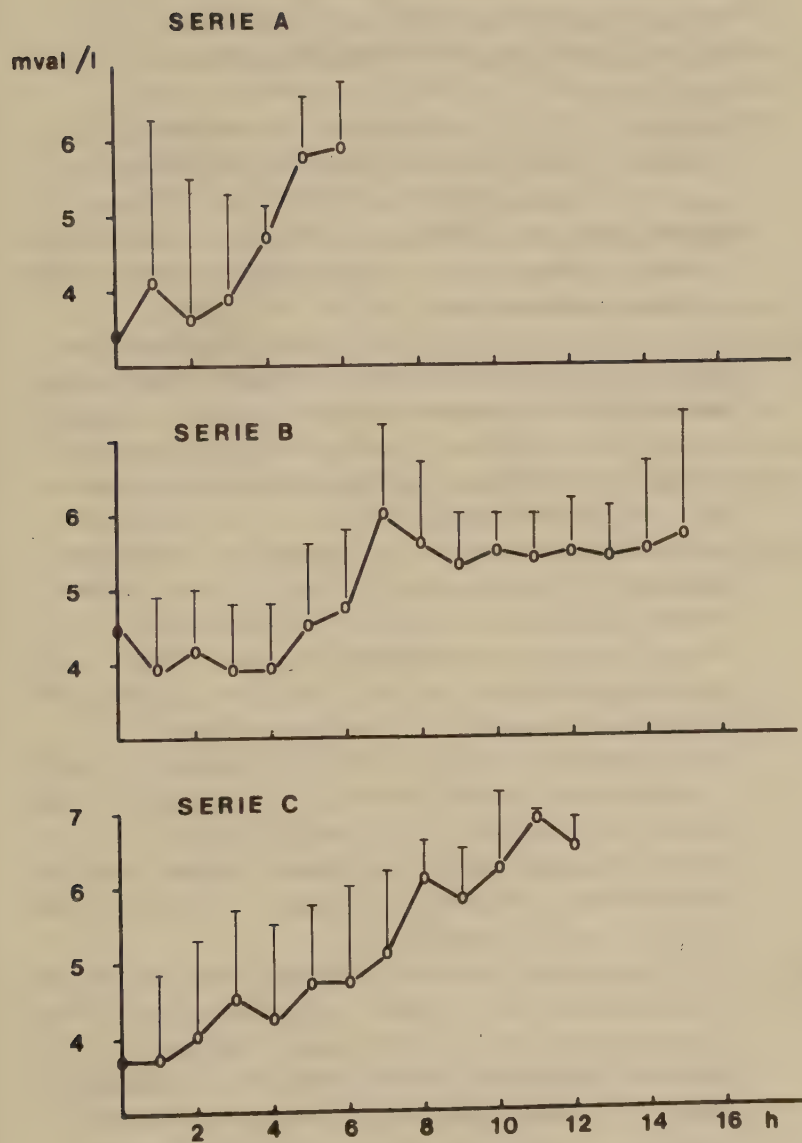
Natrium: Wie aus der Abb. 8 ersichtlich ist, kann übereinstimmend ein Anstieg der Natriumkonzentration nachgewiesen werden, der allerdings in den drei Versuchsserien recht unterschiedlich ist. Mit Ausnahme der Serie A zeigt sich ein signifikantes Ansteigen der Werte, wobei der Anstieg in Serie B innerhalb der ersten 4 Perfusionsstunden in der Größenordnung dem der Serie A entspricht. Die Zunahme der Natriumkonzentration in Serie C ist eher zögernd.

Kalium: Die Messung der Kaliumionen in dem Perfusat ergab ebenfalls einen Anstieg der Konzentration mit zunehmender Perfusionsdauer. Auch hier ist der Anstieg in den Serien A, B und C unterschiedlich groß (vgl. Abb. 9).

In der Serie A konnte ein statistisch signifikant zu sichernder Anstieg der Kaliumionenkonzentration von 3,36 mval/l zu Beginn der Perfusion auf 5,8 mval/l in der 5. Stunde beobachtet werden. Ein geringerer Anstieg des Kaliums erfolgte in Serie B mit Werten von 4,7 mval/l in der 6. und 5,2 mval/l in der 9. sowie 5,7 mval/l in der 15. Perfusionsstunde. Deutlich ansteigend verhielt sich der Kaliumspiegel in der Serie C. Schon nach der 9. Stunde stiegen die Kaliumwerte auf 5,8 mval/l und erreichten mit 6,9 mval/l in der 11. Perfusionsstunde einen maximalen Wert.



**Abb. 8 VERÄNDERUNGEN DES NATRIUMS IM
VERLAUF DER PERFUSION DER SERIEN
A, B UND C**



**Abb. 9 VERÄNDERUNGEN DES KALIUMS IM
PERFUSAT DES H. L. P.**

Vergleicht man die Konzentrationen des Kaliums in den Serien B und C mit denen des Natriums in den gleichen Serien, so findet man folgenden Zusammenhang:

Während in Serie B der Anstieg der Natriumkonzentration im Verhältnis zum Anstieg der Natriumkonzentration in Serie C innerhalb eines gleichen Zeitraumes erheblich größer ist, findet man diese Beziehung in umgekehrter Weise bei dem Vergleich der Kaliumkonzentrationen.

Kalzium: In der Serie A erfährt das Kalzium nach einem anfänglichen Abfall bis zur 2. Perfusionsstunde einen Anstieg, der bis gegen Ende der Perfusion andauert. Die Konzentration des Kalziums zur 3. Perfusionsstunde ist signifikant erhöht gegenüber der zu Beginn der Perfusion ($p < 0,05$).

Auffallend hoch gegenüber den anderen Serien erscheinen die Kalziumwerte der Serie B mit Schwankungen zwischen 7,0 mval und 8,0 mval/100 ml (Tab. 9). Diese Erhöhung ist beabsichtigt. Siehe darüber 3.2.2. Signifikant erniedrigt ($p < 0,05$) ist die Kalziumkonzentration in der 15. Perfusionsstunde.

Einen stetigen Anstieg des Kalziums konnte in Serie C festgestellt werden, wobei sich signifikante Unterschiede zum Ausgangswert in der 3., 4., 8., 9., 11. und 12. Perfusionsstunde errechnen ließen. Die Konzentrationen betrugen hier jeweils 5,48; 5,48; 5,82; 5,4; 5,79 und 5,5 mval/l.

Magnesium: Die Messung der Magnesiumkonzentrationen im Verlauf der Perfusion läßt in Serie A einen Anstieg um etwa 1 mval/l in den ersten 5 Stunden erkennen. Serie B hingegen verzeichnet keine nennenswerten Änderungen (Tab. 10). Diese Tatsache mag durch die Wechselwirkung des Magnesiums mit der erhöhten Kalziumkonzentration bedingt sein. In der Serie C ist bezüglich der Magnesiumkonzentration ein signifikanter Anstieg zu verzeichnen, der aus einem Austritt

der zu 99 % intrazellulär befindlichen Magnesiumionen resultiert. Setzt man die Konzentrationsänderungen des Magnesiums mit denen des Kaliums in Beziehung, so ergibt sich ein gleichsinniges Verhalten in allen Serien: Geringe Zunahme der Konzentrationen beider Elektrolyte in Serie B und starkes Ansteigen in Serie C.

Zusammenfassend ergibt die Auswertung der Konzentrationsänderungen der Elektrolyte:

1. Eine signifikante Erhöhung der Konzentration von Natrium, Kalium sowie Magnesium in Serie C, wobei die Natriumkonzentration bis auf 173 mval/l (Serie B), die Kaliumkonzentration bis 6,5 mval/l (Serie C) und die Magnesiumkonzentration auf 2,6 mval/l (Serie C) ansteigt.
2. Ein gegensätzliches Verhalten der Natrium- und Kaliumkonzentration in den Serien B und C.
3. Stärkerer Anstieg des Kaliums nach Kortikoidgabe (Serie C).

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	4,59 $\pm$	0,82	7,22 $\pm$	0,18	5,25 $\pm$	0,52
1	4,47 $\pm$	0,81	<u>7,35</u> ⁺ $\pm$	0,29	5,66 $\pm$	0,34
2	<u>4,0</u> ⁺ $\pm$	1,39	7,23 $\pm$	0,37	5,29 $\pm$	0,39
3	4,08 $\pm$	1,55	7,33 $\pm$	0,48	<u>5,48</u> ⁺ $\pm$	0,45
4	<u>4,69</u> ⁺ $\pm$	0,38	7,39 $\pm$	0,46	<u>5,48</u> ⁺ $\pm$	0,45
5	5,32 $\pm$	0,52	7,46 $\pm$	0,74	5,57 $\pm$	0,56
6	5,22 $\pm$	0,38	7,47 $\pm$	0,73	5,51 $\pm$	0,48
7	-	-	7,34 $\pm$	0,99	5,58 $\pm$	0,42
8	-	-	7,77 $\pm$	0,42	<u>5,82</u> ⁺ $\pm$	0,38
9	-	-	7,85 $\pm$	0,66	<u>5,40</u> ⁺ $\pm$	0,07
10	-	-	7,91 $\pm$	0,98	5,71 $\pm$	0,43
11	-	-	7,91 $\pm$	0,98	<u>5,79</u> ⁺ $\pm$	0,13
12	-	-	7,97 $\pm$	1,05	<u>5,50</u> ⁺ $\pm$	0,41
13	-	-	7,67 $\pm$	1,07	-	-
14	-	-	7,23 $\pm$	0,96	-	-
15	-	-	<u>7,0</u> ⁺ $\pm$	0,55	-	-

Tab. 9: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ des Kalziums in den Serien A, B und C.
Angaben in mval/l.

⁺ statistisch signifikanter Wert.

Zeit (h)	Serie A		Serie B		Serie C	
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	2,63	$\pm 0,89$	1,96	$\pm 0,66$	1,79	$\pm 0,05$
1	2,55	$\pm 0,96$	2,14	$\pm 0,47$	1,79	$\pm 0,39$
2	3,24	$\pm 0,85$	1,95	$\pm 0,55$	2,03	$\pm 0,67$
3	3,5	$\pm 0,27$	2,0	$\pm 0,52$	2,04	$\pm 0,56$
4	3,43	$\pm 0,04$	2,12	$\pm 0,54$	1,61	$\pm 0,42$
5	3,56	$\pm 0,14$	2,04	$\pm 0,56$	2,05	$\pm 0,54$
6	3,56	$\pm 0,14$	1,92	$\pm 0,64$	2,22	$\pm 0,5$
7	-	-	1,84	$\pm 0,79$	2,25	$\pm 0,54$
8	-	-	1,87	$\pm 0,73$	2,0	$\pm 0,24$
9	-	-	2,07	$\pm 0,68$	<u>2,72</u> ⁺	$\pm 0,34$
10	-	-	2,04	$\pm 0,64$	<u>2,28</u> ⁺	$\pm 0,29$
11	-	-	2,06	$\pm 0,65$	2,79	$\pm 0,7$
12	-	-	1,92	$\pm 0,51$	2,63	$\pm 0,79$
13	-	-	1,57	$\pm 0,66$	-	-
14	-	-	1,99	$\pm 0,36$	-	-
15	-	-	1,85	$\pm 0,15$	-	-

Tab. 10: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ des Magnesiums in den Serien A, B und C.
Angaben in mval/l.

⁺ statistische Signifikanz.

3.3.4. Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels:

Die Bestimmung einiger Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels läßt folgende Aussagen über die Stoffwechsel-lage des HLP zu.

Glucose: Anhand zweier HLP konnte gezeigt werden, daß schon innerhalb der ersten Stunden ein starker Abfall des Glucosespiegels im Perfusat auftrat. Die Blutzuckerwerte sanken dabei in der 1. Stunde im Mittel auf 74 mg% und in der 2. Stunde auf 45 mg% ab. Diese Tatsache machte eine Substitution von Glucose erforderlich, die in Form der von vielen Autoren (13, 38) verwendeten Glucose + Insulin-Behandlung durchgeführt wurde.

Anhand von Glucose-Messungen zeigt sich, daß die Substitution nur innerhalb der ersten 6 Stunden einen Glucosespiegel von mehr als 70 mg/100 ml ergab, während danach das Angebot an Glucose im Perfusat signifikant absank (Abb. 10).

Lactat: Die Lactatkonzentration erwies sich während der Perfusion als relativ konstant. In den Experimenten der Serie A fällt sie von anfangs 50 mg/100 ml auf 30 mg in der 5. Stunde ab. Der allmähliche Anstieg der Lactatwerte in Serie B und eine nahezu gleichbleibende Konzentration in Serie C sind ebenfalls aus Abb. 10 ersichtlich.

Pyruvat: Das Pyruvat vermindert sich in Serie A als auch in Serie C mit zunehmender Perfusionsdauer unter 1 mg/100 ml, wobei der stärkste Abfall innerhalb der ersten beiden Stunden liegt (Tab. 11). Dieser Abfall erfolgt parallel dem des Glucosespiegels im Perfusat. Hingegen scheint in Serie B ein Anstieg des Pyruvats (bei Absinken der Glucose) durch eine Anreicherung des Lactats bedingt zu sein.

Vergleicht man die Konzentrationsänderungen beider Metabolite miteinander, so bestätigt sich eine enge Korrelation mit einer zeitlichen Verzögerung von einer Stunde.

Abschließend läßt sich feststellen:

1. Trotz Glucosesubstitution wurde ein starker Abfall des Glucosespiegels während der Perfusion beobachtet.
2. Es ist daher ein stärkerer Glucoseverbrauch anzunehmen.
3. In Serie B ergab die Auswertung des gemessenen Lactats einen Anstieg desselben nach der 8. Perfusionsstunde. Es muß angenommen werden, daß dieser Anstieg auf einer anaeroben Stoffwechsellage einiger Gewebsbezirke beruht.

mg/100 ml LACTAT



mg/100 ml GLUCOSE

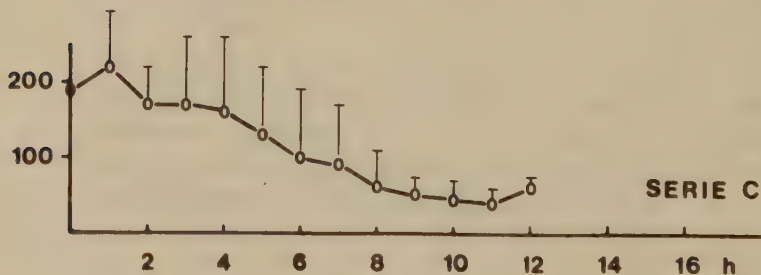
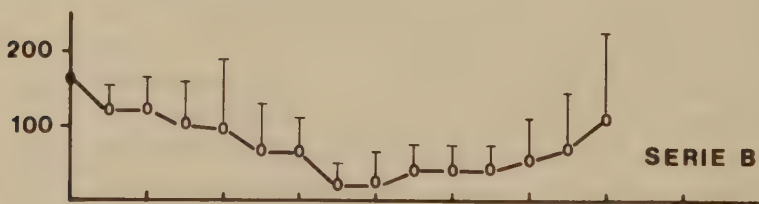


Abb. 10 VERÄNDERUNGEN VON LACTAT UND GLUCOSE
WÄHREND DER PERFUSION IN SERIE B UND C

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	2,33 $\pm$	2,15	1,44 $\pm$	0,69	1,92 $\pm$	1,63
1	1,17 $\pm$	1,12	2,16 $\pm$	1,7	1,62 $\pm$	2,0
2	0,71 $\pm$	0,71	2,11 $\pm$	1,64	0,68 $\pm$	0,61
3	0,35 ⁺ $\pm$	0,43	2,15 $\pm$	1,45	0,45 ⁺ $\pm$	0,29
4	0,57 $\pm$	0,53	2,22 ⁺ $\pm$	1,56	0,37 ⁺ $\pm$	0,19
5	0,79 $\pm$	0,71	2,06 $\pm$	1,61	0,71 ⁺ $\pm$	0,36
6	0,29 $\pm$	0,0	1,71 $\pm$	0,89	0,44 ⁺ $\pm$	0,28
7	-	-	2,34 $\pm$	1,56	0,82 ⁺ $\pm$	0,49
8	-	-	2,26 $\pm$	1,63	0,73 $\pm$	0
9	-	-	2,62 ⁺ $\pm$	1,57	0,69 $\pm$	0
10	-	-	3,0 ⁺ $\pm$	1,81	1,15 $\pm$	0
11	-	-	2,93 ⁺ $\pm$	1,92	-	-
12	-	-	3,22 ⁺ $\pm$	2,17	-	-
13	-	-	3,41 ⁺ $\pm$	2,39	-	-
14	-	-	2,89 $\pm$	3,04	-	-
15	-	-	2,64 $\pm$	2,8	-	-

Tab. 11: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ des Pyruvats in den Serien A, B und C.
Angaben in mg/100 ml.

⁺ statistische Signifikanz.

3.3.5. Andere Metabolite:

Serum-Hämoglobin

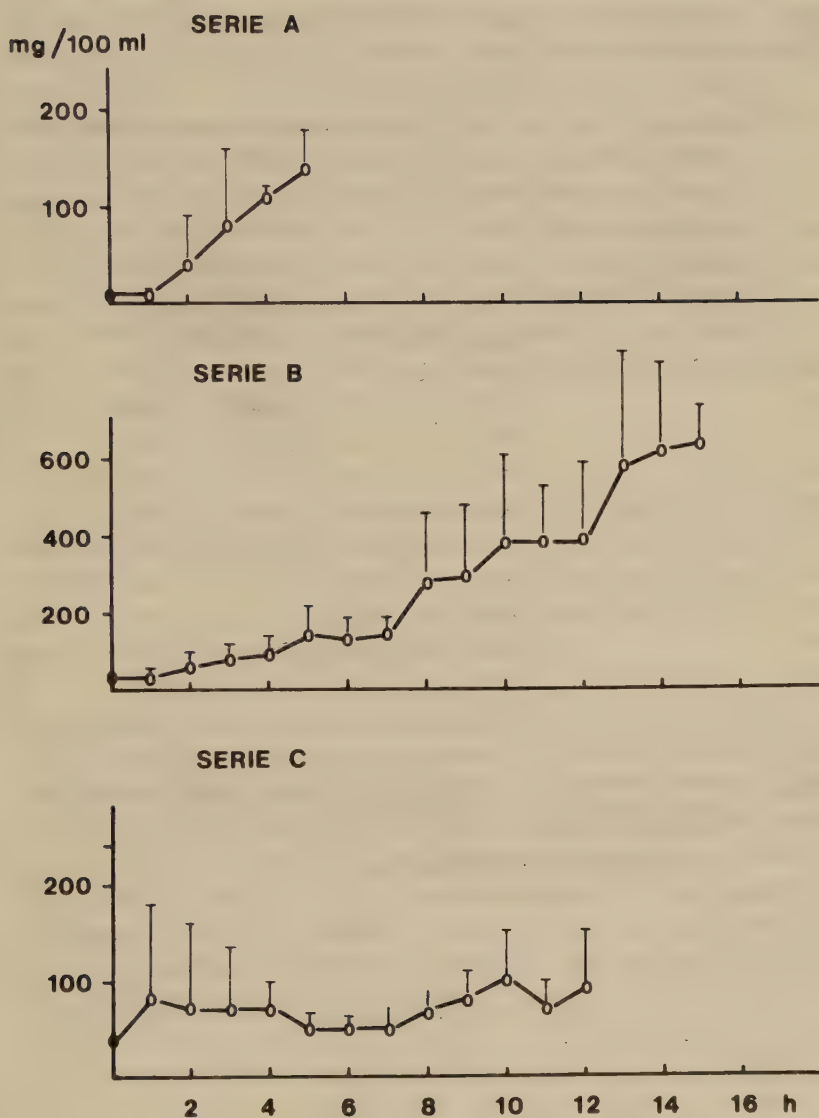
Zur Erkennung des Hämolysegrades bei Perfusion mit erythrozytenhaltigen Lösungen ist die Messung des freien Serum-Hämoglobins von Bedeutung.

Wie Abb. 11 zeigt, konnte in allen Serien ein signifikanter Anstieg beobachtet werden. Er variiert jedoch hinsichtlich der Höhe in den Serien beträchtlich. Während in der Serie A nach 5-stündiger Perfusion ein Wert von 140 mg/100 ml gemessen wurde, steigen die Werte in Serie B bis auf 600 mg/100 ml in der 15. Perfusionsstunde an. Die Serie C hat zwar auch einen signifikanten Anstieg zur 4. Perfusionsstunde aufzuweisen ($p < 0,01$), ihre Werte übersteigen jedoch auch nach 12-stündiger Perfusion nicht den Wert von 100 mg/100 ml.

Hämatokrit

Nach Mischung der beiden Anteile des Perfusionsmediums im Verhältnis 1 : 1 wurden Hämatokritwerte zwischen 20 und 30 gemessen.

Das Verhalten des Hämatokrits während des Perfusionsverlaufes zeigt Tab. 12. In allen Serien läßt sich ein Abfall bezüglich des Ausgangswertes nachweisen, der sich statistisch als signifikant erweist. Dabei zeigt sich, daß sich in Serie A nach 2, 3 und 4 Stunden Perfusion p-Werte von $p < 0,05$; 0,05 und 0,0125 vorliegen, während in Serie C mit Ausnahme des 2., 3. und 10. Stundenwertes alle Werte signifikant in bezug auf den Anfangswert abfallen. Die Serie B läßt einen geringen Abfall erkennen.



**Abb. 11 ANSTIEG DES SERUM - HÄMOGLOBINS
IN DEN SERIEN A,B UND C**

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	34,3 $\pm$	10,23	25,36 $\pm$	7,85	36,37 $\pm$	9,8
1	31,65 $\pm$	8,53	23,73 $\pm$	6,0	30,25 ⁺ $\pm$	8,4
2	29,45 ⁺ $\pm$	8,63	22,93 $\pm$	4,74	29,31 $\pm$	9,51
3	22,0 ⁺ $\pm$	6,0	21,5 ⁺ $\pm$	4,7	25,43 $\pm$	7,87
4	22,16 ⁺ $\pm$	3,61	21,37 ⁺ $\pm$	4,3	23,5 ⁺ $\pm$	6,57
5	18,0 $\pm$	0,0	21,06 ⁺ $\pm$	4,09	21,91 ⁺ $\pm$	9,63
6	18,0 $\pm$	0,0	21,37 ⁺ $\pm$	5,94	27,5 ⁺ $\pm$	7,77
7	-	-	22,75 $\pm$	5,71	25,87 ⁺ $\pm$	4,95
8	-	-	20,83 $\pm$	5,96	21,0 ⁺ $\pm$	4,95
9	-	-	26,75 $\pm$	1,06	23,5 ⁺ $\pm$	3,53
10	-	-	26,25 $\pm$	0,35	26,5 $\pm$	7,77
11	-	-	26,5 $\pm$	0,0	25,75 ⁺ $\pm$	9,66
12	-	-	26,5 $\pm$	0,0	-	-
13	-	-	26,0 $\pm$	2,12	-	-
14	-	-	25,62 $\pm$	2,65	-	-
15	-	-	25,5 $\pm$	4,95	-	-

Tab. 12: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ des Hämatokrits in den Serien A, B und C.
Angaben in %.

+ statistische Signifikanz.

Bilirubin

Eine Messung des Bilirubins erfolgte aufgrund der schon bei der Besprechung der SDH und Alkalischen Phosphatase (3.3.2.) erwähnten Gründe (Erweiterung des HLP durch ein weiteres Organ). Eine Änderung der Bilirubinwerte war in einem Herz-Lungen-Präparat nicht zu erwarten. Dementsprechend fallen die Werte recht uniform aus. Neben einem leichten Abfall in den Experimenten der Serien A läßt sich in Serie C sehr anschaulich die den Bilirubinspiegel senkende Wirkung der Kortikoide zeigen (Tab. 13). Dabei erweist sich der Bilirubinwert der 4. Perfusionsstunde als signifikant gegenüber dem Nullwert erniedrigt ($p < 0,05$). Das Bilirubin in Serie B verzeichnet einen leichten Anstieg in den ersten Stunden.

Biuret

Beim Biuret wurden in allen Serien Werte um 3,5 g/100 ml gemessen (Tab. 14). Serie A als auch Serie C zeigen keine Änderungen, lediglich in Serie B steigt der Eiweißgehalt infolge zusätzlich gegebenen Albumins außer der 3., 6., 10. und 12. Perfusionsstunde signifikant an.

Osmolarität

Die Osmolarität unterliegt in Serie B keinen wesentlichen Änderungen während der Perfusion.

Die gemessenen Werte liegen im Mittel um 300 mosmol/ml (Tab. 15). In Serie C zeigt sich ein signifikanter Anstieg aller Werte außer in der 1. und 3. Perfusionsstunde. Der maximale Einzelwert beträgt 345 mosmol. Auch in der Serie A erhöht sich die Osmolarität. Mit $p < 0,025$ ist sie in der 4. Perfusionsstunde signifikant erhöht.

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	0,17	$\pm$ 0,13	0,09	$\pm$ 0,06	0,23	$\pm$ 0,12
1	0,19	$\pm$ 0,15	0,12	$\pm$ 0,03	0,22	$\pm$ 0,14
2	0,16	$\pm$ 0,09	<u>0,13</u> ⁺	$\pm$ 0,03	0,19	$\pm$ 0,09
3	0,15	$\pm$ 0,09	0,15	$\pm$ 0,08	0,2	$\pm$ 0,06
4	0,08	$\pm$ 0,05	<u>0,16</u> ⁺	$\pm$ 0,05	<u>0,1</u> ⁺	$\pm$ 0,09
5	0,09	$\pm$ 0	0,13	$\pm$ 0,07	0,13	$\pm$ 0,07
6	0,09	$\pm$ 0	0,15	$\pm$ 0,09	0,15	$\pm$ 0,11
7	-	-	0,16	$\pm$ 0,11	0,13	$\pm$ 0,16
8	-	-	0,15	$\pm$ 0,09	0,19	$\pm$ 0,08
9	-	-	0,15	$\pm$ 0,1	0,25	$\pm$ 0,14
10	-	-	0,18	$\pm$ 0,11	0,25	$\pm$ 0,09
11	-	-	0,17	$\pm$ 0,09	0,23	$\pm$ 0,01
12	-	-	0,11	$\pm$ 0,04	0,2	$\pm$ 0,01
13	-	-	0,19	$\pm$ 0,12	-	-
14	-	-	0,14	$\pm$ 0,04	-	-
15	-	-	0,11	$\pm$ 0,01	-	-

Tab. 13: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ des Bilirubins in den Serien A, B und C.
Angaben in mg/100 ml.

⁺ statistische Signifikanz.

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	3,52 $\pm$	1,44	3,39 $\pm$	0,29	3,88 $\pm$	0,88
1	3,24 $\pm$	1,56	3,69 $\pm$	0,25	4,10 $\pm$	0,94
2	3,59 $\pm$	1,54	<u>3,59</u> ⁺ $\pm$	0,11	3,96 $\pm$	1,61
3	2,96 $\pm$	1,12	3,59 $\pm$	0,2	3,54 $\pm$	0,28
4	3,24 $\pm$	0,95	<u>3,81</u> ⁺ $\pm$	0,25	3,61 $\pm$	0,35
5	4,13 $\pm$	0,17	<u>4,07</u> ⁺ $\pm$	0,46	3,48 $\pm$	1,48
6	3,64 $\pm$	0,87	3,91 $\pm$	0,7	<u>3,69</u> ⁺ $\pm$	0,34
7	-	-	<u>4,21</u> ⁺ $\pm$	0,82	3,42 $\pm$	0,95
8	-	-	<u>4,09</u> ⁺ $\pm$	0,76	3,33 $\pm$	1,09
9	-	-	<u>4,09</u> ⁺ $\pm$	0,93	3,73 $\pm$	1,22
10	-	-	4,19 $\pm$	0,8	3,74 $\pm$	0,79
11	-	-	<u>4,2</u> ⁺ $\pm$	0,84	3,6 $\pm$	1,03
12	-	-	4,14 $\pm$	0,82	3,75 $\pm$	1,59
13	-	-	<u>4,14</u> ⁺ $\pm$	0,66	-	-
14	-	-	4,17 $\pm$	0,87	-	-
15	-	-	4,16 $\pm$	0,72	-	-

Tab. 14: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ von Biuret in den Versuchsserien A, B und C. Angaben in g/100 ml.

⁺ statistische Signifikanz.

Zeit (h)	Serie	A	Serie	B	Serie	C
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
0	294,33 $\pm$	6,03	302,0 $\pm$	0	310,9 $\pm$	19,48
1	313,66 $\pm$	28,02	302,0 $\pm$	0	311,3 $\pm$	24,09
2	314,33 $\pm$	32,03	302,0 $\pm$	0	316,1 ⁺ $\pm$	24,52
3	322,0 $\pm$	31,19	302,0 $\pm$	0	328,1 $\pm$	15,39
4	351,0 ⁺ $\pm$	29,68	302,0 $\pm$	0	335,8 ⁺ $\pm$	14,46
5	-	-	314,0 $\pm$	0	340,5 ⁺ $\pm$	12,82
6	-	-	321,5 $\pm$	0	348,83 ⁺ $\pm$	18,53
7	-	-	321,5 $\pm$	0	351,66 ⁺ $\pm$	18,7
8	-	-	321,5 $\pm$	0	337,5 ⁺ $\pm$	2,12
9	-	-	321,5 $\pm$	0	340,5 ⁺ $\pm$	0,7
10	-	-	321,5 $\pm$	0	345,0 ⁺ $\pm$	5,65
11	-	-	326,5 $\pm$	0	342,0 ⁺ $\pm$	2,82
12	-	-	326,5 $\pm$	0	346,5 ⁺ $\pm$	0,7
13	-	-	328,0 $\pm$	0	-	-
14	-	-	328,0 $\pm$	0	-	-
15	-	-	329,0 $\pm$	0	-	-

Tab. 15: Arithmetisches Mittel $\bar{x}$ und Standardabweichung σ der Osmolarität in den Serien A, B und C.
Angaben in mosmol/100 ml.

⁺ statistische Signifikanz.

Eine abschließende Betrachtung der besprochenen Metabolite zeigt:

1. Eine Zunahme des Hämolysegrades mit steigender Perfusionsdauer in Serie A und B;
2. eine Abnahme des Hämatokritwertes in allen Serien;
3. keine Veränderungen des Bilirubinspiegels (außer in Serie C);
4. signifikante Erhöhung des Biurets in Serie B und der Osmolarität in Serie A und C.

3.4. Morphologie:

Veränderungen der Morphologie, d. h. grobmorphologische Veränderungen, Sektion und histologische Untersuchungen, zeigten in den durchgeführten Versuchen recht uniforme Ergebnisse. Obwohl hin und wieder geringe Abweichungen hinsichtlich des Grades der Ausbildung in den einzelnen Serien bestanden, erscheint eine getrennte Besprechung nicht notwendig.

3.4.1. Grobmorphologische Veränderungen:

Außerlich sichtbare Anzeichen morphologischer Veränderungen an den perfundierten Organen zeigten sich sowohl am Herzen als auch an der Lunge.

Mit Beginn der 3. Perfusionsstunde trat in der Lunge eine leichte Hypostase auf, die mit fortschreitender Perfusionsdauer deutlich zunahm. Ab der 5. - 7. Perfusionsstunde machte sich in seltenen Fällen zusätzlich Flüssigkeitsaustritt in das Interstitium des Lungengewebes bemerkbar. In einzelnen Fällen war er von teils massiven Blutaustritten begleitet. So zeigte sich in drei Fällen nach 5-, 5 1/2- und 6-stündiger Perfusion der Austritt blutig schaumigen Sekretes aus dem Trachealbaum, der in einem Fall von mehreren Obturations-

atelektasen begleitet war. In einem anderen Experiment konnte ein bullöses, randständiges Emphysem beobachtet werden.

Mit zunehmender Perfusionsdauer traten vermehrt Ekchymosen auf, die anfangs einzeln waren, später jedoch konfluieren und immer größere Lungenabschnitte einnahmen.

Die meisten H e r z e n zeigten keine Veränderungen.

In einigen wurde nach 6- bis 8-stündiger Perfusion eine leichte Oedembildung deutlich. Seröses, nichtblutiges Exsudat sammelte sich im subpericardialen Raum an, was eine Fenestrierung des Pericardis notwendig machte. Andere Herzen zeigten im Bereich der Koronargefäße eine hämorrhagische Diapedese bzw. Diathese, die meist erst nach 8 - 10 Stunden auftrat. Ferner konnte man manchmal eine Dilatation des Herzmuskels nach längerer Perfusion beobachten.

3.4.2. Sektion:

Bei der Herauslösung des Herzens aus der Pericardhöhle wurde in dieser eine Ansammlung von meist mehreren Millilitern unblutigen Sekretes gefunden. Das H e r z selbst war in einigen Fällen deutlich dilatiert, was besonders auf die Ventrikelmuskulatur zutraf. Die Oberfläche war glatt und glänzend und zeigte meist keine pathologischen Farbveränderungen, abgesehen von petechienartigen Blutungen entlang den Koronarien und flächenhaften Blutaustritten im Bereich der Vorhöfe, ganz selten der Ventrikel bei Anwendung von Herzmassage. Die Konsistenz der Muskulatur war schlaff, die Dicke der Muskelwand normal. Bei der Ausführung von Schnitten durch Vorhöfe und Kammern konnte man an der Schnittfläche keine wesentlichen Veränderungen der Farbe und Zeichnung der Schnittfläche erkennen. Der Herzzinnenraum war in allen Fällen von flüssigem Blut gefüllt. Geronnenes Blut konnte bei keiner der Sektionen nachgewiesen werden.

In zwei Experimenten zeigten sich in der Herzinnenwand kleinere, blutunterlaufene Muskelzonen, die in einem Fall auch an den Papillarmuskeln beobachtet wurden. Entlang den stark blutgefüllten Herzkranzgefäßen wurden petechienartige Blutungen gefunden. Die Gefäße enthielten, soweit ersichtlich, keine Thromben. Auch Intimaveränderungen konnten grobmorphologisch nicht nachgewiesen werden.

Bei der äußeren Betrachtung der L u n g e zeigte sich in allen Fällen eine Hypostase in den bei der Perfusion unten gelegenen Teilen des Lungengewebes. Andere Lungenabschnitte waren durch z. T. linsengroße Hämorrhagien ausgezeichnet, die in der Serie A ausgeprägter zu sein schienen. Die Oberfläche der Lunge war glatt und glänzend und ließ sich an den nichthypostatischen Lungenabschnitten noch relativ gut eindrücken, jedoch konnte man z. T. das übliche Knistern vermissen. Das Aussehen der Lunge deutete selten auf ein Lungenoedem hin. In zwei Fällen wurden Anzeichen emphysematischer Lungenzonen (bullöses Randemphysem, interstitielles Emphysem) beobachtet. Die Schnittfläche der eingeschnittenen Lunge zeigte eine normale Lungenzeichnung (außer in den hypostatischen Lungenabschnitten), von der sich reichlich blutig schaumiges Sekret abstreifen ließ.

Die Gefäße der Lunge waren teilweise stark blutgestaut, aber nicht durch Thromben verlegt. Der Bronchialbaum war in einigen Versuchen ebenfalls reichlich mit Sekret gefüllt. In vier Fällen strömte aus dem Bronchialbaum beim Eröffnen hämorrhagische Flüssigkeit.

3.4.3. Histologische Untersuchungen:

Herz

Die Übersichtsvergrößerung zeigte einen normalen strukturellen Aufbau der Herzmuskulatur. Sowohl die Färbung der Zellkerne als auch die Querstreifung der Muskelzellen waren deutlich erkennbar. Vereinzelte Muskelzonen erschienen

homogener und weniger intensiv gefärbt als andere. Hin und wieder beobachtete man gelblich gefärbte Zonen, die sich straßenförmig in das Muskelgewebe ausbreiteten. Besonders reichlich waren sie in den dem Epicard naheliegenden Muskelbezirken.

Bei den stärkeren Vergrößerungen konnte man eine normal gefärbte Herzmuskulatur erkennen. In den vereinzelt homogen erscheinenden Regionen zeichneten sich die Muskelfasern durch verminderte Streifung und Verlust der Kernfärbbarkeit aus. Ein histologisches Präparat wies zwei kleinere aus Leukozyten und Lymphozyten bestehende Infiltrationsherde auf. Ein anderes zeigte ein Gebiet mit teilweiser Muskelnekrose und hyperämischer Randzone, die an eine Infarktzone denken ließ.

Die zumeist dem Epicard naheliegenden gelblich gefärbten Areale und die davon ausgehenden Straßen erwiesen sich als Erythrozytenansammlung, die sich manchmal weit zwischen die noch intakt erscheinenden Muskelfasern ausbreiteten. Gefäßveränderungen zeigten sich in nur wenigen Präparaten. Meist waren die Gefäße in ihrem Lumen leer. In einem histologischen Schnitt wechselten im Verlauf einer längsgeschnittenen Arteriole blutleere Bereiche mit solchen starker Erythrozytenaggregation und gleichzeitiger Erweiterung der Gefäßwände. In mehreren Präparaten konnte eine Schwellung des Endothels mit stark vergrößerten Kernen und Leukozyteninfiltration nachgewiesen werden.

Lunge

In der Übersichtsvergrößerung ließ sich der strukturelle Aufbau der Lunge gut erkennen. Zonen normalen Lungenaufbaues wechselten mit solchen, in denen die Alveolen mehr oder weniger eng zusammengedrängt waren. Die Alveolarwände schienen in diesem Bereich deutlich verdickt und stärker gefärbt.

Vereinzelt zeigten sich Areale, in denen die Alveolen von einer homogenen, von Luftblasen erfüllten Masse ausgekleidet waren. Diese lagen in der Nähe epithelbedeckten Lungengewebes (Lungenoberfläche). Daneben befanden sich hellrote Areale in perivaskulären und peribronchialen Abschnitten.

Bei starker Vergrößerung ließ sich neben normalem Lungengewebe in den stärker zusammengedängten Abschnitten eine Verdickung und ein mehr oder weniger starkes Vorspringen der Alveolarsepten in den Alveolarraum erkennen. Das Zellplasma erschien vermehrt, die Zellkerne vergrößert.

Die in den Alveolarwänden liegenden Kapillaren waren in verschiedenen Richtungen gewunden und buckeln sich gegen die Alveolarlichtung vor. Die Alveolarlichtung selbst erschien meist leer. Hin und wieder zeigte sie sich von einer leicht rötlich gefärbten homogenen und mit Luftblasen durchsetzten Masse erfüllt. Andere Alveolen waren blutreich, ihre strukturelle Begrenzung war in der Masse der Blutkörperchen nur undeutlich zu erkennen. Diese blutreichen Areale fanden sich hauptsächlich in der unmittelbaren Nähe stark blutgefüllter Arteriolen und Venolen.

Der Bronchialbaum erschien im Lumen leer. Das Epithel war meist nicht oder nur wenig verändert. In unmittelbarer Umgebung des Bronchialsystems lagen reichlich Leukozyten und Lymphozyten. Vereinzelt waren sie auch in den Alveolarsepten anzutreffen. Im Vergleich zu den große Lungenabschnitte ausfüllenden Erythrozytenmassen zeigte sich die Rundzellinfiltration nicht stark ausgeprägt.

Zusammenfassend ließen sich folgende Befunde erheben:

Veränderungen der Morphologie nach einer bis zu 15-stündiger Perfusion zeigten sich vorwiegend in der Lunge. Neben dem Bild einer Stauungslunge mit mehr oder weniger starker Ausprägung traten vereinzelt Infiltrationsherde aus Rund-

zellen, selten Oedeme auf. Diese Veränderungen waren häufiger und auch ausgeprägter bei den 5 - 7 Stunden dauernden Experimenten.

Weniger ausgeprägt erschienen die Veränderungen bei den länger perfundierten Präparaten.

Am Herzen wurden weitaus weniger starke Veränderungen gefunden. Sie beschränkten sich auf Gewebsblutungen, vereinzelte Zonen geringere Färbbarkeit und Rundzellinfiltrationen.

4. DISKUSSION:

Die aufgezeigten biochemischen, morphologischen und funktionellen Ergebnisse zeigen, daß eine nahezu störungsfreie Autoperfusion der Herz-Lungen-Präparate in den ersten Stunden möglich ist. In der Zeit zwischen der 4. - 7. Perfusionsstunde machten sich jedoch biochemische, morphologische und schließlich funktionelle Veränderungen bemerkbar, deren Ursachen und Konsequenzen im Folgenden besprochen werden sollen.

4.1. Besprechung der Perfusionsmethodik hinsichtlich funktioneller und biochemischer Organveränderungen:

Von den in der Literatur beschriebenen Techniken der normothermen Perfusion erschien die zuerst von STARLING und später von DEMICHOV und ROBICSEK modifizierte Methodik (vgl. 1.2.) am geeignetsten.

Hatte STARLING anfangs nur isolierte Herzen durch Entnahme von Blut aus dem linken Ventrikel und Zuführen desselben über ein syphonartiges System mit einstellbarem Strömungswiderstand in das rechte Herzhorn perfundiert, so

gelang es ihm 1918, Herzen ohne Unterbrechung ihrer elektrischen und mechanischen Aktivität aus Tieren zu entnehmen und anschließend zu perfundieren (44).

DEMICHOV untersuchte all jene Faktoren, die bei Transplantationen während der Entnahme des Organs zu einem Herzstillstand führten (14). Als wichtige Faktoren, die einen Herzstillstand herbeiführen, fand er:

1. Das Alter der Versuchstiere. (Welpen unter 3 Monaten neigten nicht so sehr wie ältere Tiere zu einem Kammerflimmern).
2. Die Reihenfolge der Gefäßunterbindungen bei der Isolierung des Herzens. (Blieb infolge der Reihenfolge der Gefäßunterbindung wenig Blut in dem Präparat zurück, so sank der Blutdruck stark ab und ein rascher Herzstillstand folgte. War andererseits in dem Präparat zuviel Blut zurückgeblieben, so beobachtete er neben diffusen Blutungen in der Umgebung der Gefäße eine Lähmung des Herzens).
3. Die Art der Durchführung der Narkose und der künstlichen Beatmung.
4. Manipulationen in der Brusthöhle des Spendertieres. (Ebensolche führten oft zum starken Abfall des arteriellen Druckes und Herzminderdurchblutung oder reflektorischer Frequenzänderung mit nachfolgenden Rhythmusstörungen).

Ferner fand er heraus, daß es in der Mehrzahl der Experimente relativ schwer war, nach einem Herzstillstand die normale Herztätigkeit wiederherzustellen, und daß es für die Fortdauer des Präparates am geeignetsten sei, einen Herzstillstand schon von vornherein zu vermeiden.

Weiterhin zeigte die von DEMICHOV beschriebene Methodik der Entnahme des Präparates unter Selbstperfusion den Vorteil, daß eine Unterbrechung des natürlichen Blutflusses

durch Ischämie und eine mögliche Zellschädigung durch hypotherme Perfusion (47) vermieden werden kann. Bei einer nachfolgenden Reimplantation kann ferner die Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine oder eine hypotherme Auswaschung umgangen werden (25, 38), indem das autoperfundierende Organsystem bei geeigneter Operationstechnik ohne Unterbrechung seiner Funktion an den Wirtsorganismus angeschlossen wird.

Dieselben Schwierigkeiten und Ursachen, denen DEMICHOV in seinen Experimenten gegenüberstand, traten in der Serie A der vorliegenden Versuche auf. Durch Verbesserung der von ROBICSEK beschriebenen Methodik der Stabilisierung des Kreislaufes (37, 38, 39) und eine den Erfordernissen der jeweiligen Kreislaufsituation angepaßte Steuerung konnten diese Schwierigkeiten weitgehend vermieden werden.

Eine der Verbesserungen war die Hinzunahme eines zweiten Blutreservoirs in den Perfusionskreislauf, so daß jeweils ein den arteriellen und venösen Perfusionsdruck regulierendes Blutreservoir vorhanden war. Die anfangs verwendeten Polyäthylenflaschen wurden wegen mangelnder Temperaturkonstanz des Perfusates in den Serien B und C durch solche mit einem in seiner Temperatur konstanten Wassermantel ersetzt. Das arterielle Blutreservoir hatte eine fixe Höhe von 80 cm und garantierte damit einen konstanten Perfusionsdruck in den Koronarien bzw. einen konstanten peripheren Widerstand. Bei verminderter Herztätigkeit oder völligem Herzstillstand kam es nach längerer Wirkung des hydrostatischen Druckes der Blutsäule auf die Herzklappen und Ventrikelmuskulatur zu einer zunächst reversiblen Erweiterung der Herzkammern, die schließlich in eine irreversible Dilatation und Insuffizienz des Herzklappenmechanismus überging. Die durch die regelrechte Herzaktion aufrechterhaltene Hämodynamik kam zum Erliegen. Herz und Lungen wurden nicht mehr durchblutet.

Eine Anpassung des Perfusionsdruckes an die jeweiligen Kreislaufverhältnisse war dadurch möglich, daß die Höhe des Flüssigkeitsspiegels durch Öffnen oder Drosseln des Überlaufventils zwischen arteriellem und venösem Blutreservoir verändert werden konnte. Die Höhe des Flüssigkeitsspiegels in dem venösen Blutreservoir konnte sowohl durch Höhenänderung des Gefäßes als auch Höhenänderung des Flüssigkeitsspiegels erfolgen, so daß hier eine exakte Anpassung an den erforderlichen Venendruck möglich war.

Eine ständige Überwachung des venösen Blutangebotes wurde durch intermittierende Anzeige des Venendruckes in der Vena cava superior erreicht. Die Höhe des Venendruckes war gleichzeitig ein empfindlicher Indikator für die Herzleistung. Zur Verminderung des Auswurfswiderstandes des linken Ventrikels wurde in den Serien B und C eine zweite Verbindung zwischen dem Herzen und dem arteriellen Blutreservoir geschaffen. Gleichzeitig wurde damit eine größere Toleranz hinsichtlich der Größe des Schlagvolumens erreicht.

Ein besonderes Problem bei der Autoperfusion ist die Aufrechterhaltung einer regelmäßigen und kräftigen Herzaktion. Diese ist von mehreren Faktoren abhängig: Einmal den Druck- und Volumenverhältnissen, dem Nahrungsangebot, der zugeführten Menge an positiv inotrop wirkenden Pharmaka sowie dem Grad der ischämischen Schädigung des Herzgewebes bei der Entnahme des Organes. Wichtigstes Ziel war daher, eine Störung seitens dieser auf die Herzaktion einwirkenden Faktoren wirksam zu verhindern. Über die Konstanz der Druck- und Volumenverhältnisse wurde oben schon gesprochen. Das Nahrungsangebot sowie die Menge an positiv inotrop wirkenden Pharmaka konnten durch Verwendung einer Infusionspumpe (45) exakt reguliert werden, wobei als Gradmesser im wesentlichen die Herzfrequenz diente. Das Ausmaß der ischämischen Schädigung während der Entnahme der Organe konnte durch operative

Maßnahmen, wie die Änderung der Reihenfolge der Gefäßunterbindungen, die genaue Beobachtung der Kreislaufsituation sowie die schnelle Behebung von Herzrhythmusstörungen, herabgesetzt werden.

Als bedeutend erwiesen sich auch die Temperatureinflüsse von außen. Infolge einer ständigen Abnahme der Temperatur des Perfusates und der der perfundierten Organe bei Verwendung von Polyäthylenflaschen als Blutreservoir wurde es notwendig, nach anderen Möglichkeiten zur Aufrechterhaltung konstanter normothermer Bedingungen zu suchen. Eine entscheidende Verbesserung brachten die Einführung der temperierbaren Blutreservoirs, des thermostatisch gesteuerten Heizungssystems, einer neuen Organkammer sowie der ständigen Temperaturkontrolle im Perfusat.

Schon in den anfänglichen Versuchen erwies es sich als vorteilhaft, das Perfusionssystem ortsunabhängig verwenden zu können. Diese Erkenntnis wurde bei der Verbesserung des Perfusionssystems berücksichtigt. Die einzelnen Komponenten wurden, nur verbunden durch das Heizungssystem, gegeneinander beweglich auf einem fahrbaren Wagen plaziert. Dieser konnte entsprechend den Erfordernissen beliebig verschoben werden.

Mit der stetigen Weiterentwicklung des Perfusionssystems zeigten sich auch Schwierigkeiten und Nachteile: Die Perfusion erforderte einen hohen technischen Aufwand mit speziellen Apparaturen, die hinsichtlich ihrer Funktion und Wirkungsweise gut aufeinander abgestimmt sein mußten. Dieser hohe technische Aufwand bedingte seinerseits wieder vermehrte Kontrollen wie die Überwachung der Herzfrequenz, des Venendruckes, der Temperaturen, der Substitution von Nähr- und Wirkstoffen, der Zusammensetzung des Perfusates (Blutgase, Enzyme etc.) und der Sterilität. Auch werden hohe Anforderungen an die Operationstechnik insbesondere bei

der Entnahme der Organe und dem Anschluß an das Perfusionssystem, nicht zuletzt auch bei der Reimplantation, gestellt. Bei jedem Experiment war außerdem ein gewisses Risiko des Scheiterns zu berücksichtigen, obwohl ein großes Maß an Stabilisierung und Standardisierung des Perfusionssystems erreicht werden konnte.

Weitere Schwierigkeiten ergaben sich hinsichtlich der Frage nach dem Grad der Sterilität bei den Perfusionsversuchen. Die verwendeten Materialien (Silikonschläuche, Organkammer und Blutreservoir aus Plexiglas) erlaubten keine Dampfsterilisation mit Hilfe eines Autoklaven. Hier sind aufgrund der Thermolabilität der verwendeten Materialien nur chemische Verfahren anwendbar, wie z. B. die Gassterilisation mit Äthylenoxid (AO) (11). Die Lagerung der Organe in der Organkammer sollte ebenfalls unter streng aseptischen Bedingungen erfolgen. Bei allen Manipulationen an den Organen sind sterile Handschuhe zu verwenden. Da ein direkter Kontakt der Raumluft mit den Organen besteht, sollte die Raumluft keimarm sein und die Organe mit einem feuchten Tuch abgedeckt werden.

Hinsichtlich der Verwendung eines geeigneten Perfusionsmediums sind mehrere Faktoren zu berücksichtigen. Die Verwendung von physiologischen Salzlösungen und ihren zahlreichen Modifikationen mit und ohne rote Blutkörperchen (Tyrodelösung, Ringer-Lactat etc.) erlaubt keine physiologische Perfusion von Organen (7, 12), da ihnen der Eiweißbestandteil fehlt, der wesentlich zur Aufrechterhaltung eines geeigneten onkotischen Druckes ist. Auch die hypotherme Perfusion mit Largiadèr'scher Lösung (4°C) ist unzureichend, da sie akute enzymchemische Veränderungen im Perfusat aufweist (47). Zur Perfusion eines HLP bietet sich die Verwendung des aus dem Spendertier gewinnbaren Vollblutes an. Dieses kann im extrakorporalen Kreislauf entweder als solches oder in diluierter Form (47, 50) mit und ohne Zusätze angewandt werden.

Die genannten Perfusionslösungen bieten zugleich Vorteile und Nachteile, die sorgfältig gegeneinander abgewogen werden müssen:

Vollblut enthält alle für die Organfunktion wichtigen Stoffe in einer dem Körper adäquaten Konzentration, kann aber infolge des hohen Hämatokritwertes bei beeinträchtigter Mikrozirkulation schnell zu sludge-Bildung führen. Dilutiertes Medium neigt besonders bei Verwendung von Dextran zu erhöhter Blutungsbereitschaft (10, 22, 33). Bei Verwendung von Ringer-Lösung kommt es zu oedematösen Veränderungen in den Organen, besonders der Lunge.

Inwieweit bei Gebrauch körperfremden, artspezifischen Blutes Antigen-Antikörper-Eigenschaften bei Tieren eine Rolle spielen, ist weitgehend ungeklärt.

Sie würden sicherlich das Auftreten von Hämolyse und akuten hämorrhagischen Phänomenen erklären.

Das in den vorliegenden Experimenten angewandte Perfusat wurde mit verschiedenen Lösungen dilutiert (siehe 2.2.3.). Die oben erwähnten Risiken wurden im Hinblick auf die geringere Viskosität und damit bessere Mikrozirkulation sowie geringere sludge-Bildung in Kauf genommen. Die geringgradigen Variationen in den Anteilen der Plasmaexpander zeigten nur insofern eine Auswirkung, als bei Nichtverwendung von Dextran Gewebsblutungen geringer zu sein schienen und Unterschiede in der Wasserbindungskapazität bestanden. Die gleichzeitige Gabe des Antikoagulans Heparin und der als Fibrinolytikum wirkenden Streptokinase hat sich hinsichtlich der Vermeidung von Thromben und Embolien gut bewährt, obwohl letztere möglicherweise eine weitere Ursache für das Auftreten hämorrhagischer Phänomene sein kann. Aufgrund der den Kortikoiden eigenen membranstabilisierenden Wirkung konnten die biochemischen und morphologischen Veränderungen reduziert werden.

4.2. Besprechung biochemischer Veränderungen:

Die Veränderung biochemischer Verhältnisse ist einer der Faktoren, der zusammen mit morphologischen Kriterien und der in vivo-Funktion eine Aussage über die Qualität einer Konservierung erlaubt. Diese Veränderungen sind abhängig von der angewandten Konservierungsmethode, der Temperatur und der Dauer der Konservierung. Je schonender eine Konservierungsmethode und Perfusionsanlage ist, um so weniger wird sie zu Schädigungen führen. Ferner ist bei hypothermen Konservierungsverfahren der Umsatz von Metaboliten aufgrund der Stoffwechselverlangsamung weniger groß. Veränderungen biochemischer Art im Perfusat werden daher bei Hypothermie und Normothermie unterschiedlich sein, insofern als nach der VAN'T POFF'schen Regel chemische Vorgänge bei einer Temperaturerhöhung um 10°C um das Zweifache schneller ablaufen und somit Abweichungen des Metabolismus früher und deutlicher in Erscheinung treten. So ist z. B. mit zunehmender Dauer der Perfusion durch Zunahme der morphologischen Schädigung mit einem vermehrten Freiwerden intrazellulärer Stoffe (Enzyme, Elektrolyte) zu rechnen.

Hinsichtlich des Gaswechsels sind bei isolierten Organen einige Besonderheiten zu berücksichtigen. Vor allem ist zu beachten, daß der Gasaustausch isolierter Organe im Verhältnis zu dem des Gesamtorganismus wesentlich kleiner ist. Schon geringfügige Änderungen in der Beatmungsfrequenz, des Gasvolumens oder der prozentualen Zusammensetzung des Gases verursachten in den Experimenten starke Blutgasverschiebungen. Die alleinige Verminderung der Atemfrequenz hatte den Nachteil, daß die Funktion der Lunge früher zum partiellen Ausfall führte als in solchen Experimenten, in denen eine Anpassung der Blutgase durch einen der anderen Parameter erfolgte. Dabei spielt der Umstand,

daß die Lunge unter extrakorporalen Bedingungen infolge des Fehlens eines negativen Druckes im Thorax bei der Inspiration leichter zur Ausbildung von Atelektasen neigt, eine entscheidende Rolle. Die Funktionseinschränkung des Lungengewebes konnte anhand der Veränderungen der Blutgase und der Morphologie nachgewiesen werden. Zudem war gegen Ende der Versuche eine höhere Atemfrequenz zur Sicherung konstanter Blutgase erforderlich.

Eine Änderung des Atemvolumens konnte nur in engen Grenzen vorgenommen werden, da es entweder bei zu kleinem Atemvolumen zu fortschreitenden Atelektasen mit lokalen Durchblutungsstörungen oder bei zu großem Atemvolumen zu interstitiellem und randständigem Emphysem sowie Blutgasverschiebungen kam.

Die beste Möglichkeit, sich der besonderen Verhältnisse der Beatmung isolierter Organe anzupassen, besteht in der Änderung der prozentualen Zusammensetzung des Gasgemisches (18). So wurde in der Serie A der Beatmungsluft Kohlendioxyd zugesetzt. Infolge ungenügender Dosierbarkeit konnten pH-Verschiebungen nicht vermieden werden. Der in den Serien B und C angewandte BENNET-Respirator erlaubte eine genauere Regulierung der Beatmung. Dennoch war hier zur Aufrechterhaltung konstanter Blutgase eine Substitution mit Natriumbikarbonat notwendig, deren zuzuführende Menge sich nach der Größe des base-excess richtete.

Die Messung der Blutgase zeigte in den Serien A, B und C keine wesentlichen Abweichungen von den Ausgangswerten. Auffällig war in allen Serien eine besonders zu Beginn der Versuche bestehende respiratorische Alkalose, die im Verlauf der Versuche eine abnehmende Tendenz zeigte. Insbesondere in der Versuchsserie C läßt sich ein Abfall der pH-Werte bis auf 7,3 verfolgen, deren Ursache bei gleichen Atembedingungen sowohl in der Abnahme atmungsaktiver Lungenoberfläche als auch dem Freiwerden saurer Metabolite zu suchen ist.

Die in den Experimenten gemessenen Sauerstoffpartialdrucke liegen in allen Serien deutlich über den physiologischen Werten. In der Serie B zeigt sich ein langsames Abfallen des Sauerstoffpartialdruckes mit zunehmender Perfusionsdauer bis auf Werte um 70 mm Hg. Diese ab der 11. Perfusionsstunde auftretende Erniedrigung ist dadurch bedingt, daß das arithmetische Mittel ab der 12. Perfusionsstunde auf der Messung der Sauerstoffpartialdrucke eines einzigen Versuches beruht.

Bei einer Zellschädigung kommt es zum Austritt normalerweise nur intrazellulär vorhandener Enzyme in die Blutbahn. Ein Ansteigen der Enzymaktivitäten im Serum ist die Folge. Bei Kenntnis der unter physiologischen Bedingungen auftretenden Enzymaktivitäten im Serum sowie in den Organen ist es differentialdiagnostisch möglich, bei einer Gewebeschädigung auf den Ort und den Grad der Schädigung zu schließen. Die Analyse der Enzymaktivitätsänderungen der vorliegenden Versuche ist nun dadurch erschwert, daß eine gleichzeitige Schädigung sowohl des Herzens, der Lunge als auch der roten Blutkörperchen in Erwägung gezogen werden muß. Betrachtet man zunächst die vorwiegend in der Herzmuskulatur vorhandenen Enzyme GOT und LDH, so kann man schon nach wenigen Stunden einen Anstieg ihrer Aktivitäten im Perfusat nachweisen. Sowohl der Grad der Schädigung als auch der Zeitpunkt seines Eintritts ist in den einzelnen Serien unterschiedlich (vgl. Abb. 7):

Hinsichtlich der GOT ist ein signifikanter Anstieg aller Werte nach der 3. Perfusionsstunde in Serie B festzustellen ($p < 0,05$). In der Serie C wurde lediglich der 4-Stundenwert sowie der 6-Stundenwert signifikant erhöht gefunden ($p < 0,05$; $p < 0,025$). Betrachtet man die LDH, so sind hier ähnliche Verhältnisse festzustellen. Auch hier ist der Anstieg der LDH-Werte in Serie B viel deutlicher vor-

handen als in Serie C (ab der 5. Stunde). Ein signifikanter Austritt der Enzyme aus dem Gewebe erfolgt hier erst ab der 8. Perfusionsstunde.

Inwieweit eine Erhöhung der LDH-Aktivität durch Hämolyse bedingt ist, kann nur anhand des gleichzeitig gemessenen Hämolysegrades im Serum abgeschätzt werden. Dazu ist festzustellen, daß es in der Serie B zu einer progredienten Zunahme des Plasmahämoglobins bis auf 600 mg/100 ml zum Zeitpunkt des Versuchsendes kam (vgl. Abb.11). Der Anstieg des Serumhämoglobins in der Serie A auf 150 mg/100 ml in der sechsten Perfusionsstunde liegt über dem betreffenden Wert der Serie B. In der Serie C stiegen die Serumhämoglobinwerte von Beginn der Perfusion von 40 auf 100 mg/100 ml zum Zeitpunkt des Versuchsendes an.

Daraus ist ersichtlich, daß ein Anstieg der LDH-Aktivität infolge Zerfall von Erythrozyten im Perfusat am ausgeprägtesten in der Serie A und B war, während die Aktivitätsänderungen der LDH in der Serie C nur unwesentlich durch Hämolyse beeinträchtigt wurde.

Ein Vergleich der GOT-Aktivitäten in den drei Versuchsserien untereinander zeigt in der Serie B innerhalb der 6. - 8. Stunde eine Verdoppelung der Werte von 30 auf 60 mU/ml gegenüber einem Anstieg von 30 auf 32 mU/ml im gleichen Zeitraum der Serie C. Der Grad der Organschädigung in der Serie B wie auch der Serie A ist also wesentlich höher als in der Serie C. Der Kortikoideffekt (membranstabilisierende Eigenschaften) kommt hier deutlich zum Tragen.

Angaben über Aktivitätsänderungen der GOT während der Perfusion isolierter Herz-Lungen-Präparate in der Literatur bestätigen diese Ergebnisse weitgehend. So fand RO-BICSEK in allen Versuchen einen signifikanten Anstieg der GOT-Aktivität. Zahlenangaben über die Höhe des Anstieges macht der Verfasser nicht (39).

Schon vor ihm konnte YAMADA nach achtstündiger Perfusion einen Anstieg der GOT-Aktivität von 12 auf 180 mU/ml messen und sie auf die Zerstörung von Myocardzellen zurückführen (50). Gab er gleichzeitig Kortikoide, so fand er in dem gleichen Zeitraum einen deutlich verminderten Anstieg von 12 auf 80 mU/ml. Dieser Wert liegt um etwa 50 Einheiten über den in Versuchsserie C gefundenen Werten (vgl. Abb. 7).

TÖRÖK fand bei pharmakologischer Substitution des Herzens eine niedrige GOT-Aktivität bei einem verspäteten Eintritt der Organschädigung um 1 1/2 - 2 Stunden. Dennoch zeigte sich nach 6 Stunden Perfusion ein GOT-Anstieg auf über 200 mU/ml (47). Angaben über Aktivitätsänderungen der LDH wurden von oben genannten Autoren nicht gemacht.

Eine ebenfalls statistisch gesicherte Zunahme der Aktivität der GPT in Serie B in der 7., 15. und 15. Stunde (vgl. Tab. 6) bestärkt die Annahme einer Herzschiidigung. Sie erwies sich allerdings weniger ausgeprägt im Verhàltnis zu den Ànderungen des GOT- und LDH-Spiegels.

Anhand der gefundenen Aktivitätszunahme der genannten Enzyme kann eine Herzschiidigung angenommen werden, wobei der Beginn der Schiidiigung in Serie B ab der 3. und in Serie C ab der 4. - 5. Perfusionsstunde deutlich wird.

Ein den gefundenen morphologischen Verànderungen der Lunge entsprechendes biochemisches Korrelat konnte nicht nachgewiesen werden. Zwar wurde ein Anstieg der vorwiegend in der Lunge vorkommenden GLDH wàhrend der Perfusion in Serie B beobachtet (vgl. Abb. 7), jedoch konnte die Zunahme des GLDH-Spiegels nicht statistisch belegt werden. In der Serie C war ein Anstieg der Enzymaktivitât nicht nachweisbar, so daÙ eine Lungenschiidiigung vom biochemischen Standpunkt aus nur unter Vorbehalten gefordert werden kann, zumal dieses Enzym sehr unzuverlâssig hinsichtlich der Diagnostik von Lungengewebsschiidiigungen ist. Zeitlich lâsst sich ein vermehrter

GLDH-Anstieg in der Serie B um die 6. - 8. Perfusionsstunde einordnen. In der Serie C ist hierüber keine Aussage möglich.

Bei der Enzymdiagnostik ist weiterhin die Berücksichtigung des freien Plasmahämoglobins wichtig, erlaubt sie doch eine Aussage über den Grad der Schädigung der Erythrozyten. In den Serien A und B kann statistisch ab der 3. bzw. 4. Stunde eine stetige Zunahme des Hämolysegrades nachgewiesen werden, was einer zunehmenden Schädigung der Erythrozyten gleichkommt, wobei vorwiegend das intrazelluläre Kalium und die Enzyme LDH, GOT und GPT frei werden (vgl. Abb. 11), Serie C läßt eine Zunahme des freien Plasmahämoglobins mit zunehmender Perfusionsdauer vermissen. Allerdings kommt es hier schon innerhalb der ersten Stunde zu einem Anstieg des freien Plasmahämoglobins von 40 mg% auf 80 mg%.

Einen membranstabilisierenden Effekt der Kortikoide konnte YAMADA schon 1965 anhand des Hämolysegrades nachweisen (50). Ohne Kortikoidgabe fand er nach 8-stündiger Perfusion eine Zunahme des freien Plasmahämoglobins von 10 auf 200 mg%, während der Anstieg bei Kortikoidgabe innerhalb des gleichen Zeitraumes lediglich 30 mg% betrug.

Bei den vorliegenden Versuchen zeichnet sich eine ähnliche Tendenz ab: Ohne Kortikoidgabe erfolgte ein Anstieg der Hämolyse nach 8-stündiger Perfusion auf 250 mg/100 ml im Vergleich zu 80 mg/100 ml im gleichen Zeitraum bei Gabe von 0,25 mg Kortison auf 1000 ml Perfusionsflüssigkeit.

Eine Überprüfung der Elektrolytveränderungen hinsichtlich einer möglichen Organschädigung läßt übereinstimmend in allen Serien einen Anstieg des PlasmaNatriums und PlasmaKaliums erkennen (vgl. Abb. 8 und 9). Am ausgeprägtesten war der Anstieg des Natriums in Serie B von anfangs 147 mval/l auf 175 mval/l in der 10. Perfusionsstunde, wo hingegen in Serie C in dem gleichen Zeitraum das Plasma-Natrium von 148 auf 156 mval/l anstieg. Die Plasma-Kalium-Werte erhöhen sich in demselben Zeitraum in Serie B von 4,5 mval/l

auf 5,5 mval/l. In Serie C konnte eine Zunahme des Plasma-Kaliums um annähernd 2,5 mval/l beobachtet werden.

Die Veränderungen des Kalziums im Perfusat (vgl. Tab. 9) ergaben sowohl in Serie A als auch Serie C ein signifikantes Ansteigen, das durch Substitution von Kalzium zwecks therapeutischer Unterstützung des Herzens bedingt ist.

Die auffallend hohen Kalziumwerte der Serie B sind ebenfalls therapeutisch bedingt durch den hohen Kalziumspiegel der Infusionslösung (12,5 mval/l in der verwendeten Gelatinelösung).

Die Messung der Magnesiumkonzentration im Perfusat zeigt in Serie B keine nennenswerten Veränderungen. In Serie A dagegen ist ein leichter und in Serie C ein stärkerer Anstieg zu verzeichnen. Damit ergibt sich ein gleichsinniges Verhalten des Magnesiums und des Kaliums.

Diese z. T. erhebliche Zunahme der Elektrolyte im Perfusat ist einerseits bedingt durch Substitution von Natriumionen in Form von Natriumbikarbonat zwecks Ausgleich der Blutgase, zum anderen durch die in der Serie C in Form einer Infusion zugeführten Gelatinelösung (Haemaccel^R), die eine Elektrolytkonzentration von 145 mval Natrium, 5,1 mval Kalium und 12,5 mval Kalzium in 1000 ml enthält (20). Andererseits ist eine Zunahme des vorwiegend intrazellulär gelagerten Kaliums durch Freisetzung desselben bei Gewebsschädigung zu beachten. Über den aus dem Gewebe stammenden prozentualen Anteil des Kaliums kann an dieser Stelle keine Angabe gemacht werden.

Da zwischen den einzelnen Elektrolyten enge Wechselbeziehungen bestehen und zudem der Kalziumspiegel durch Substitution starken Schwankungen unterlag, ist eine differenzialdiagnostische Aussage über eine bevorzugte Schädigung des einen oder des anderen Organs nicht möglich. Wichtig ist es zu erwähnen, daß eine Wechselwirkung zwischen Na-

trium und Kalium in den Serien B und C besteht. Während in Serie B der Ausstrom von Natrium im Verhältnis zu dem des Kaliums erheblich größer ist, konnte in der Serie C unter Kortikoidgabe ein überaus starker Anstieg des Kaliums beobachtet werden.

Die von anderen Autoren durchgeführten Elektrolytuntersuchungen an isolierten Herz-Lungen-Präparaten sind in ihren Aussagen erheblich unterschiedlich. YAMADA wies einen Anstieg des Serum-Natriums innerhalb eines Zeitraumes von 10 Perfusionsstunden um 30 mEq/l und einen Abfall der Kalium-Werte um annähernd 2 mEq/l nach. Unter Kortikoid-Therapie konnten die Natrium-Werte konstant gehalten werden, während die Kalium-Werte hier einen leichten Abfall zeigten. TÖRÖK fand bei seinen Untersuchungen keine wesentlichen Änderungen in der Elektrolytkonzentration (47).

Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels besitzen eine große Bedeutung für die Leistung des Myokards. Neben der Möglichkeit, Energie aus dem Abbau der Glukose zu gewinnen, besitzt das Herz die Fähigkeit, Lactat zu metabolisieren, wobei von manchen Autoren der letztere Weg als der vorwiegende angesehen wird (33). Schon nach wenigen Stunden kann im Perfusat des autoperfundierten Herz-Lungen-Präparates praktisch keine Glucose mehr nachgewiesen werden (47). Diese Tatsache machte eine Substitution von Glucose erforderlich, die in Form der gleichzeitigen Gabe von Glucose und Insulin durchgeführt wurde. Anhand des während der Perfusion fortlaufend gemessenen Glucosespiegels im Perfusat konnte festgestellt werden, daß die Substitutionstherapie nur während den ersten 6 - 7 Stunden ausreichend war. Eine Auswertung der gefundenen Pyruvat- und Lactat-Werte läßt keine abnormen Abweichungen vom Metabolismus der Kohlenhydrate erkennen. Lediglich ein leichter Anstieg der Lactat-Werte in der Serie B nach der 8. Perfusionsstunde mag als Hinweis auf eine anaerobe Stoffwechsellage einiger Gewebsbezirke gedeutet werden.

In Übereinstimmung mit der Zunahme des freien Serumhämoglobins steht der gefundene Abfall des Hämatokrits. Neben einem Zelluntergang der Erythrozyten mag hier die Tatsache entscheidend sein, daß morphologisch im Bereich beider Lungenlappen eine zunehmende Hypostase während des Perfusionsablaufes eintrat, wodurch sich im zirkulierenden Perfusat die geformten Bestandteile verminderten.

Zu erwähnen ist noch die Osmolarität (kolloidosmotischer Druck), die im Plasma normalerweise 350 mm H₂O beträgt. Dieser Druck wird durch eine 7,5 %ige Proteinlösung ausgeübt. In der verwendeten Perfusionslösung waren 3,5 g Eiweiß entsprechend einer 3,5 %igen Proteinlösung enthalten. Dieser Wert resultiert aus der Verdünnung des Vollblutes sowie dem Zusatz von Albumin.

Während der Perfusion konnten signifikant ansteigende Biuretwerte in Serie B beobachtet werden. Unter der Gabe von albuminhaltiger Infusionslösung in Serie C blieben die Werte des Biurets konstant.

Der kolloidosmotische Druck des Perfusats betrug 300 mosmol/ml, was annähernd dem Normwert des Plasmas entspricht. Dieser Wert resultiert aus der Verdünnung des Vollblutes mit Plasmaexpandern, die je nach verwendetem Präparat einen wesentlich höheren kolloidosmotischen Druck als das Plasma aufweisen (21, 20). Die wichtigsten Eigenschaften dieser Blutersatzmittel sind in Tab. 16 zusammengestellt. Hinsichtlich der Wasserbindungskapazität haben Gelatinelösungen sowie Dextranlösungen mit einem Molekulargewicht von 40 000 eine starke Wirkung. Sie liegt deutlich über derjenigen eines Gramms Albumin. Der Volumeneffekt einer Gelatinelösung ist bei vorhandener renaler Ausscheidung niedrig im Gegensatz zu dem einer Albumin- und Dextranlösung. Da bei dem isolierten Organsystem keine renale

ALBUMIN Wasserbindungskapazität: 18 ml/g
Volumeneffekt: gut

GELATINE Wasserbindungskapazität: in vivo nicht bekannt
Volumeneffekt: niedriger, da renale Ausscheidung
Aggregierende Wirkung: bei geringer Konzentration

DEXTRAN Wasserbindungskapazität:
Dextran 60 000 20 - 25 ml/g
Dextran 40 000 26 - 29 ml/g
Volumeneffekt: bei Dextran 40 000 etwa doppelt
so hoch wie die zugeführte Menge
Disaggregierende Wirkung: besonders bei Ver-
wendung von Dextran 40 000
Deutliche Veränderung der Plättchenadhäsivität

Tab. 16: Eigenschaften der wichtigsten Blutersatz-
mittel (modifiziert nach GRUBER).

Ausscheidung stattfindet, kommt der niedrige Volumeneffekt der Gelatinelösung hier in seiner Bedeutung nicht zum Tragen.

Die Verlaufsbeobachtung des kolloidosmotischen Druckes (Osmolarität) zeigt in Serie A und C einen signifikanten Anstieg der Werte, während die Zunahme in Serie B statistisch nicht signifikant ist.

Alle anderen untersuchten Metabolite geben keinen Hinweis auf eine Änderung des Stoffwechsels bzw. auf eine Schädigung der genannten Organe.

4.3. Besprechung der Morphologie:

Die im Verlauf der Perfusion auftretenden morphologischen Veränderungen sowie die nach Beendigung der Perfusion durchgeführte histologische Untersuchung wurde bereits unter 3.4. besprochen. Hier gilt es nun, die gefundenen Veränderungen ursächlich zu begründen.

Lunge: Die an der Lunge zuerst feststellbare Veränderung war die einer Hypostase. Der Beginn ihres Auftretens schwankte zeitlich von der 3. bis zur 7. Perfusionsstunde. Der Grad ihrer Ausbildung war in den einzelnen Versuchen recht unterschiedlich. Einmal trat sie sehr frühzeitig, dann auch intensiv auf, ein andermal relativ spät und schwach in ihrer Intensität.

Hypostase beobachtet man gewöhnlich dann, wenn mangelnder arterieller Druck das Blut durch die Kapillaren der Lunge nicht ordentlich hindurchzutreiben vermag (Herzinsuffizienz) oder wenn im Bereich der Lunge eine Behinderung des Blutstromes besteht. Zur Entstehung der Hypostase der Lunge - besonders bei extrakorporaler Perfusion - ist die besondere Situation der extrathorakalen Lage des Lungengewebes von Bedeutung. Unter physiologischen Bedingungen ist die Lunge quasi durch ihr viscerales Pleura-

blatt an dem die Thoraxhöhle auskleidenden parietalen Pleurablatt angeheftet. Dadurch wird speziell bei der Expiration ein Zusammensinken des in seiner Konsistenz weichen Lungengewebes verhindert. Unter extrakorporalen Bedingungen kommt es infolge der Eigenelastizität zum Kollaps des Lungengewebes, wodurch besonders in den basalen Gewebsanteilen ein starker Gewebsdruck entsteht, der eine regelrechte Durchblutung und Beatmung in diesen Gewebsbereichen erschwert. Da zur Zeit der 3. bis 7. Perfusionstunde bei den meisten Präparaten keine Herzinsuffizienz nachweisbar war, muß die Entstehung der Hypostase hier in der besonderen Situation der extrathorakalen Lage der Lunge zu suchen sein.

Die Ätiologie des in einigen Fällen zur gleichen Zeit auftretenden Lungenödems ist mannigfaltig.

Folgende Faktoren sind von besonderer Bedeutung:

1. Hydrostatischer Druck in den Alveolarkapillaren
2. pulmonaler Lymphabfluß
3. Permeabilität der Kapillarwände
4. kolloidosmotischer Druck des Perfusates
5. Gewebsdruck.

Sobald der hydrostatische Druck den kolloidosmotischen Druck übersteigt, tritt vermehrt Flüssigkeit in den Alveolarraum aus. Wird die Kapazität des Lymphsystems beim Abtransport der anfallenden Flüssigkeit überschritten oder kommt es infolge eines erhöhten Gewebsdruckes oder Blutüberfüllung in der Lunge zu Lymphabflußstörungen, so entsteht ein Lungenödem. Eine Veränderung des hydrostatischen Druckes ist Folge einer Linksherzinsuffizienz.

Die Permeabilität kann durch zahlreiche toxisch-infektiöse Einflüsse erhöht werden. Insbesondere sind hier die Wirkung von Bakterientoxinen und endogenen Toxinen bei Gewebszerfall zu nennen.

Aus diesem Grunde sind Infektionsprophylaxe durch Gabe von Antibiotika in das Perfusat und genaue Beachtung der Sterilität von großer Bedeutung, vor allem bei gleichzeitiger Anwendung von Kortikoiden, die die Ausbreitung einer Infektion begünstigen können. Auch ist eine Keimarmut der umgebenden Luft anzustreben, da die sich selbst perfundierenden Organe direkten Kontakt mit dieser haben.

Ferner spielt die Beschaffenheit des Perfusionsmediums eine besondere Rolle. Ursächliche Faktoren sind neben der Änderung der Elektrolytkonzentration eine Verminderung des Eiweißgehaltes des Perfusates sowie die Gabe von Plasmaexpandern.

Über die Wirkung eines vermehrten Gewebsdruckes wurde oben berichtet.

Mit fortschreitender Perfusionsdauer wurde eine Zunahme der erwähnten Lungenveränderungen festgestellt. Als Folge der Hypostase und der Oedembildung kam es zu einer Einschränkung der atmungsfähigen Lungenoberfläche und Abnahme der Gewebselastizität. Beide Erscheinungen führten zu einem kompensatorischen Emphysem.

Die in drei Fällen aufgetretenen Blutaustritte aus der Trachea mögen in Zusammenhang gebracht werden mit der Gabe von Streptokinase und Heparin (40). Sicher spielen aber auch hier primär morphologische Veränderungen sowie Änderungen der Kapillarpermeabilität mit.

Die Entstehung von Atelektase und Lungenoedem wurde auch von anderen Autoren beobachtet.

ROBISCEK fand, daß es in der Regel nach 3 - 4 Perfusionsstunden zur Ausbildung flächenhafter Zonen von Atelektase und Oedemen kam. Diese Veränderungen fand er vorwiegend in der Peripherie des Lungengewebes. Transsudation von Flüssigkeit in das Bronchialsystem konnte er nur in zwei Fällen beobachten. Weiterhin zeigten sich nur wenig Beziehungen zwischen den anatomischen Veränderungen und der Hämodynamik

(39). Diese Beobachtung kann anhand der vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden. Vielmehr erbrachten die vorliegenden Versuche, daß einerseits hämodynamische Veränderungen zu pathologisch-anatomischen Erscheinungen führten, andererseits waren die morphologischen Veränderungen von Abweichungen der Hämodynamik begleitet.

Die nach Beendigung der Perfusion durchgeführten histologischen Untersuchungen bestätigen obige Befunde. Zudem konnte die Histologie den Nachweis einer pulmonalen Blutstauung, perivaskulären Blutaustritten und vereinzelt Infiltrationsherden erbringen.

Vorherrschend war das Bild der Stauungslunge und der perivaskulären Hämorrhagie, die als Folge einer kurz vor Perfusionsende aufgetretenen Herzinsuffizienz angesehen werden müssen. Morphologische und histologische Schädigungen waren weniger stark nach Gabe von Kortikoiden.

Von weitgehend identischen morphologischen und histologischen Veränderungen der Lunge wird in der Literatur berichtet. Neben zunehmender kapillarer Blutfüllung, fortschreitenden Oedemen und Austritt von Erythrozyten in die Alveolarräume (50) wird von lokaler Atelektase mit erweiterten und zusammenfließenden Alveolen als vorherrschender histologischer Veränderung berichtet (34, 39, 49). Zu Beginn der Perfusion gestalteten sich die pathologischen Veränderungen unterschiedlich, während später eine Tendenz zu perivaskulärer und parenchymaler Hämorrhagie gefunden wurde.

Herz: Die am Herzen gefundenen morphologischen Veränderungen waren diskret und unspezifisch. Am auffälligsten war eine hämorrhagische Diathese im Bereich der Koronarien. Daneben konnte eine leichte Oedembildung sowie gegen Ende der Perfusionsversuche vereinzelt eine Dilatation des Herzens beobachtet werden. Auffällig ist, daß die Befunde am Herzen zeitlich etwa 1 -

2 Stunden nach denen der Lunge auftreten. Diese Tatsache läßt eine Auswirkung der Lungenveränderungen auf das Herz annehmen. Hämorrhagien und Oedeme lassen sich ursächlich auf eine Veränderung der Kapillarpermeabilität zurückführen, deren Ursachen oben schon besprochen wurden. Das Auftreten der Dilatation des Herzens kurz vor Ende der Perfusion liegt in einer präterminalen Herzinsuffizienz begründet, deren Ursache z. T. in einer Erhöhung des pulmonalen Widerstandes zu suchen ist.

In der Literatur wird auf das zeitlich unterschiedliche Auftreten morphologischer Herzveränderungen hingewiesen (39). Während die meisten Herzen innerhalb von 6 - 12 Stunden normal erschienen, entwickelten andere relativ früh petechienartige Veränderungen im Bereich der Koronarien, die sich im weiteren Verlauf vergrößerten und zu subperikardialen Hämorrhagien zusammenflossen. Viele Herzen wurden dunkel, dilatierten und zeigten abgeschwächte Kontraktionen.

Die histologischen Veränderungen des Herzens erwiesen sich ebenfalls als unspezifisch. Vereinzelte Zonen von Infiltrationsherden und Verlust der Kernfärbbarkeit traten auf. Blutungen waren vorherrschend (34). Ihr Ausmaß blieb weit hinter den in der Lunge gefundenen zurück. In einigen Fällen konnte leichtes interstitielles Oedem nachgewiesen werden. Histologische Untersuchungen in den terminalen Stadien der Perfusion zeigten diffuse Fragmentationen der Muskelfasern (39).

Die morphologischen und histologischen Befunde in den drei Versuchsserien wiesen qualitativ uniforme Ergebnisse auf. In dem Grad ihrer Ausprägung zeigten sich jedoch Unterschiede, insofern als die Veränderungen in der Serie C wesentlich geringer erschienen. Diese verbesserte morphologische Stabilisierung ist wahrscheinlich der Wirkung der Kortikoide zuzuschreiben.

4.4. Besprechung der Hämodynamik:

Die Hämodynamik des vorliegenden Wirtskreislaufsystems wird durch mehrere Faktoren beeinflusst, die im Sinne einer Entstabilisierung des in situ ausgeglichenen Kreislaufes wirken. Unter diesen Faktoren ist zunächst die besondere Situation des extrakorporalen Kreislaufes zu nennen, die jeglicher nervaler Steuerung der Durchblutung und Blutverteilung entbehrt. Das Auftreten schwerwiegender Störungen kann hier nur durch den Versuch einer medikamentösen Beeinflussung angegangen werden. Insbesondere der Blutfluß im Bereich der Endstrombahnen wird als ein entscheidendes Moment zur Entstehung zahlreicher Veränderungen angesehen (47). Entsprechend viele Versuche einer äußeren Beeinflussung wurden gemacht, wobei mehreren Medikamenten die Wirkung einer Verbesserung der Blutströmung in diesem Bereich nachgesagt wird (32). Auch die Druckverhältnisse des Perfusionssystems sind für eine Aufrechterhaltung einer guten Hämodynamik von Bedeutung. Hier sei insbesondere auf die Perfusionsmethodik nach ROBICSEK verwiesen (vgl. 1.2. und 4.1.). Über die weiteren Druckverhältnisse im Kreislaufsystem des Herz-Lungen-Präparates siehe unter 3.2.3. Der entscheidendste Faktör für die Aufrechterhaltung der extrakorporalen Perfusion ist die Herzaktion. Neben dem Schlagvolumen gewährleistet die Herzfrequenz eine gute Versorgung der Organe mit Perfusionsmedium. Jede Änderung der Herzfunktion im Sinne einer verminderten Leistung wird folglich zu Durchblutungsstörungen führen. Es ist deshalb notwendig, die Herzaktion besonders im Auge zu behalten und bei Störungen therapeutisch einzugreifen. Eine Stabilisierung der Herzfunktion sowie eine Erleichterung der Überwachung ermöglichen die unter 2.2.4. angegebene Infusionstherapie.

4.5. Ursachen des Perfusionsendes:

Im Folgenden sollen diejenigen Ursachen besprochen werden, die zu einer Beendigung der extrakorporalen Perfusion führten. Die Kriterien, die in den Perfusionsversuchen zu einer Beendigung der Perfusion erfüllt sein mußten, waren:

1. Versagen der Herztätigkeit (hochgradige Herzinsuffizienz, Vorhof- bzw. Kammerflimmern, Herzstillstand).
2. Änderungen der Morphologie und Hämodynamik der Lunge, die zu einem Erliegen des gesamten Perfusionskreislaufes führten.
3. Akute bzw. zunehmende Blutungen.
4. Verringerung der Perfusionsflüssigkeit unter 1000 ml.

Als mögliche Ursachen der Beendigung der Autoperfusion des Herz-Lungen-Präparates sind zu nennen:

Veränderungen im Bereich des Herzens, Veränderungen im Bereich der Lunge, blutchemische Veränderungen sowie technische Fehler. Einen Überblick über die gefundenen Ursachen gibt die Tab. 17. Ihr ist zu entnehmen, daß die häufigste Ursache einer Unterbrechung der Autoperfusion in den anfänglichen Versuchen der Serie A und in Serie B ein Herzversagen war, das meist in Form einer Herzinsuffizienz mit folgendem Kammerflimmern auftrat. Ursächlich sind primäre Veränderungen im Herzen sowie Kreislaufveränderungen anzunehmen. In der Serie C stehen im wesentlichen technische Fehler (Nahtinsuffizienz) sowie Blutungen im Vordergrund. Komplikationen seitens des Herzens sind hier weniger häufig. Die Ursache der vermehrt auftretenden Blutungen liegt in der Verwendung von Dextran 40 000 begründet, das eine deutliche Verminderung der Plättchenadhäsivität und damit eine Gerinnungsstörung verursacht. Ein weiterer Faktor, der zu Änderungen in der Gerinnung führte, war die Verabreichung von Heparin und Streptokinase zur Prophylaxe von Thromboembolien.

Veränderungen im Bereich der Lunge wurden vorwiegend durch die extrakorporale Kollapsneigung des Lungengewebes hervorgerufen. Der venöse Rückstrom von den Lungen- und Pulmonalvenen zum linken Vorhof verminderte sich dadurch stufenweise und führte zu einem Circulus vitiosus. Immer weniger Blut gelangte in den linken Ventrikel und in den Koronarkreislauf; größere Blutmengen sammeln sich im Bereich des rechten Herzens an. Diese Situation führte zu einer Herzüberlastung, Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen. Ausgelöst und verstärkt werden kann diese Situation auch durch eine primäre Herzinsuffizienz.

Auch eine Einwirkung von Seiten des Stoffwechsels ist zu diskutieren. Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann jedoch gesagt werden, daß weder eine gefundene Alkalose noch ein Enzy Austritt unmittelbar zu einer Beendigung geführt haben könnte. Eine Einwirkung auf die Tätigkeit des Herzens bestand durch die gefundene Hyperkaliämie und Hyperkalzämie, die EKG-Veränderungen hervorrufen. Die gefundene Verringerung des Glucosespiegels gegen Ende der Perfusion ist sicherlich ein weiterer Faktor für das Entstehen einer Minderleistung des Herzens.

Schließlich sind noch technische Fehler zu nennen, die bei den vorliegenden Versuchen in zwei Fällen auftraten. So mußte ein Versuch der Serie B wegen Ausfalls des Blutgasmeßgerätes und den dadurch entstandenen Mangel an Kontrolle der Blutgase frühzeitig beendet werden. Ein andermal führte ein Schlauchabriß zu einem akuten Mediumverlust.

Es ist abschließend festzustellen, daß die Ursache der Beendigung der Selbstperfusion des Herz-Lungen-Präparates neben technischen Fehlern auf ein Zusammentreffen mehrerer sich negativ auf die Fortdauer des Präparates auswirkender Faktoren beruht.

Neben geringen morphologischen Veränderungen ist hier vor allem auf die besondere hämodynamische Situation infolge

Serie A

Versuchs- Nr.	Perfusions- dauer (h)	Ursache, die zur Beendigung der Perfusion zwang
1	3.00	Kammerflimmern, zu weit eingelegte Gefäßanschlüsse blockieren Klappen- funktion
2	4.25	Kammerflimmern
3	4.25	Herzstillstand
4	5.25	Kammerflimmern, Adrenalin-Überdosierung
5	5.45	Absolute Arrhythmie
Mittlere Laufzeit 4 Stunden 40 Minuten		

Serie B

1	15.15	Herzstillstand
2	5.45	Austritt von Perfusionsmedium in den Trachealraum
3	12.30	Absolute Arrhythmie
4	12.45	Bradycardie mit Kammerextrasystolen
5	8.00	Aufgabe wegen Versagens des Blutgas- meßgerätes (Astrup)
6	15.00	Mangel an Perfusionsmedium
Mittlere Laufzeit 11 Stunden 39 Minuten		

Serie C

1	4.50	Ventrikuläre Extrasystolie
2	5.55	Akuter Verlust an Perfusionsmedium (Nahtinsuffizienz an Vena cava inferior)
3	12.05	Herzinsuffizienz
4	12.10	Verlust an Perfusionsmedium
5	7.20	Verlust an Perfusionsmedium Blutung aus Arteriole
Mittlere Laufzeit 8 Stunden 23 Minuten		

Tab. 17: Ursachen, die zur Beendigung der Autoperfusion des HLP führten.

eines extrathorakalen Lungenkollapses und sich den daraus ergebenden Folgen hinzuweisen. Als weitere Ursachen sind abnorme Veränderungen in der Zellmembran als eigentliche Ursache sowie komplexe Oxygenierungsstörungen und Gewebshypoxie anzunehmen, die besonders in den Lungen zu Änderungen der Kapillarpermeabilität, zu Blut- und Flüssigkeitsaustritten in die Alveolen und damit zu einer mechanischen Behinderung der Atmung führten.

4.6. Konsequenzen aus den erhobenen Befunden:

Aus den erhobenen Befunden ergeben sich für weitere Experimente eine Reihe von Konsequenzen hinsichtlich der Verbesserung der Standardisierung, Stabilisierung sowie des Wirkungsgrades der Konservierung von Herz-Lungen-Präparaten.

Erstens gilt es, die häufigste Ursache, die zur Beendigung der Autoperfusion führte, die Schädigung des Herzens (Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen), wirkungsvoll zu bekämpfen. Dazu ist eine genaue Überwachung des Kreislaufes mit Erfassung mehrerer Kreislaufgrößen wie EKG, atriale und ventrikuläre Druckverhältnisse sowie Flowraten erforderlich, die eine sichere Aussage über die jeweilige Herzfunktion und den Zeitpunkt des Auftretens einer Herzinsuffizienz ermöglichen. Nur auf dieser Grundlage können exakte therapeutische und pharmakologische Maßnahmen aufbauen.

Ein wichtiges ungelöstes Problem ist das der Lagerung der Organe (16). Insbesondere fordert hier das Lungengewebe besondere Beachtung, da es - wie bereits erwähnt - nach Eröffnung der Pleura kollabiert und es bei der extrakorporalen Lagerung infolge des vermehrten Gewebsdruckes zu Zirkulationsstörungen kommt. Auch muß die Aufbewahrung des Herzens so erfolgen, daß die Einfluß- und Ausflußbahnen nicht durch darüberliegende Gewebsteile komprimiert werden.

Weiterhin gilt es, technische Fehler wie Schlauchabrisse sowie kleinere Blutungsquellen durch sorgfältige Präparation und Gefäßunterbindung zu verhüten. Gleichzeitig sind bei Verwendung von Heparin, Streptokinase und bestimmten Blutersatzmitteln wiederholte Gerinnungsuntersuchungen notwendig, die eine genaue Einstellung der Gerinnung ermöglicht. Gewisse Vorteile verspricht auch die Anwendung von Pyrex-Wollfiltern, die in das Gefäßsystem eingebaut werden, um Blutgerinnsel festzuhalten und damit Embolien in den Koronar- und Lungengefäßen zu verhindern (8, 9, 25).

Zur biochemischen Stabilisation ist die Eliminierung von Schädigungsfaktoren erforderlich. YAMADA führte zwei Experimente durch, in denen er den Kreislauf des Herz-Lungen-Präparates mit dem eines lebenden anästhesierten Hundes verband. Dabei zeigte sich, daß in beiden Experimenten die Präparate mehr als 24 Stunden überlebten und die pathologischen Veränderungen in der Lunge sich weniger stark ausbildeten (50). Ein Austausch von toxischen Stoffen kann auch dadurch erfolgen, daß man alle 4 - 5 Stunden das Perfusat erneuert (47, 50). Andererseits würde bei Erweiterung des Wirtskreislaufsystems durch eine Niere (50) oder eine Leber (34, 46) eine Ausscheidung von toxischen Stoffen auf physiologischem Wege erreicht.

An 16 Herz-Lungen-Leber-Präparaten (HLLP) konnte gezeigt werden, daß eine Autoperfusion dieser Organe unter standardisierten Bedingungen im Mittel bis zu 7 Stunden möglich war (31, 46, 34). Die biochemischen Befunde wiesen bei geringer Kaliumfreisetzung und kompensierter metabolischer Azidose auf eine ausreichende Organfunktion hin. Die morphologischen Veränderungen in der Leber zeigten zentrointermediär erweiterte Sinusoide und nach der 6. Perfusionsstunde gruppierte Blutseen innerhalb einzelner benachbarter Acini, als deren Ursache segmental begrenzte Abflußbehinderungen im Bereich der Venulae hepaticae anzunehmen sind.

5. ZUSAMMENFASSUNG:

Aufbauend auf die Methodik von STARLING, DEMICHOV und ROBICSEK wurde ein verbessertes Verfahren der Auto-perfusion des Wirtskreislaufsystems von Herz und Lunge erarbeitet. Dabei wurde auf eine Konservierungsmethode zurückgegriffen, die ohne die Nachteile der hypoxischen Schädigung bei Verwendung von initialer Schwerkraftperfusion mit anschließender hypothermer Lagerung und pum-penbedingter Hämolyse bei Anwendung von normothermer Dauer-perfusion mit oxygenierendem Pumpsystem eine brauchbare Organkonservierung erlaubt.

Zahlreiche Änderungen und Neuerungen hinsichtlich

- der Präparation der Organe und deren Anschluß an das Perfusionssystem (schonende Operationstechnik, Vermeidung von Herzrhythmusstörungen, Anschluß der Organe ohne Unterbrechung ihrer Blutversorgung und Funktion),
- des Aufbaues des Perfusionssystems (arterielles und venöses Blutreservoir, geeignete Druckverhältnisse und hämodynamische Stabilisierung, geeignete Organkammer, Beweglichkeit der Perfusions-anlage)
- und der Zusammensetzung des Perfusionsmediums (dilutiertes Vollblut, Verwendung zahlreicher Zu-sätze wie Insulin, Glukagon, Prednisolon, Strepto-kinase, Penicillin etc.)

wurden notwendig.

Anhand biochemischer und morphologisch-histologischer Untersuchungen wurde eine Definition des Wirtskreislauf-systems gegeben. Die nach der 3. - 7. Perfusionsstunde beginnenden und in der Regel fortschreitenden biochemi-schen Veränderungen zeigten eine Aktivitätszunahme der

Enzyme GOT, GPT und LDH. Die Elektrolyte waren gekennzeichnet durch Anstiege der Natrium-, Kalium- und Magnesiumkonzentration. Das freie Plasmahämoglobin wurde ebenfalls erhöht gefunden. Die Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels waren außer einem Absinken der Glucosekonzentration nach der 6. Stunde unverändert. Der Hämatokrit sank mit zunehmender Perfusionszeit leicht ab. Die Osmolarität und das Gesamteiweiß zeigten keine wesentlichen Abweichungen von der Ausgangskonzentration.

Die histologischen Veränderungen waren am deutlichsten an der Lunge ausgeprägt. Hier zeigte sich ab der 3. - 5. Stunde eine Hypostase in den basalen Lungenabschnitten, gefolgt von perivaskulären Hämorrhagien, interstitiellem Oedem und praller Gefäßfüllung. Am Herzen traten ab der 5. Stunde perivaskuläre, später auch interstitielle Blutungen mit Fragmentation der Myokardfasern auf.

Es konnte gezeigt werden, daß die Autoperfusion des Wirtskreislaufsystems von Herz und Lunge in der angegebenen Methodik bei Perfusionszeiten bis zu 16 Stunden eine Möglichkeit einer brauchbaren Organkonservierung darstellt. Eine organerhaltende Konservierung ist, wie die biochemischen und morphologischen Ergebnisse zeigen, für Herz und Lungen bis zu 4 Stunden möglich. Wie bei jeder Organkonservierung erlaubt eine Beurteilung der biochemischen, morphologischen und funktionellen Parameter allein keine gültige Aussage über den Erfolg einer Konservierungsmethode. Als wesentlichster Faktor entscheidet hier die Vitalität des Spenderorgans nach erfolgter Transplantation über die Leistungsfähigkeit und klinische Anwendbarkeit einer Perfusionsmethode.

6. LITERATUR:

- 1) ANREP, G.V.:
The regulation of the coronary circulation.
Physiol. Rev. 6 (1926) 596.
- 2) ANREP, G.V.:
Neue Untersuchungen über Physiologie und
Pharmakologie der Kranzgefäße.
Arch. exp. Pharm. 138 (1928) 119.
- 3) ANREP, G.V. und HÄUSSLER, H.:
The coronary circulation. I The effect of
changes of the blood-pressure and of the
output of the heart.
J. Phys. 65 (1928) 357.
- 4) ASTRUP, P.:
Ultra-Mikromethoden zur Bestimmung von pH,
pCO₂ und Standardbikarbonat im Kapillarblut.
Ciba Foundation Research (1959).
- 5) ASTRUP, P.:
The acid base metabolism. A new approach.
The Lancet 1 (1960) 1035.
- 6) BAINBRIDGE, F.A. und EVANS, C.L.:
The heart lung kidney preparation.
J. Physiol. (London) 115 (1951) 30.
- 7) BELT, A.E., SMITH, H.P. und WHIPPLE, G.H.:
Factors concerning in the perfusion of living
organism and tissues.
Am. J. Physiol. 52 (1920) 101.
- 8) BELZER, F.O., ASHBY, B.S., MAY, R.E. und DUNPHY:
Isolated perfusion of whole organs.
In: "Organ Perfusion and Preservation"
(ed. J.C. NORMAN)
pp 3 - 12 Appleton, New York (1968).
- 9) BELZER, F.O., PARK, H.Y. und VETTO, R.M.:
Factors influencing renal blood flow during
isolated perfusion.
In "Organ Perfusion and Preservation"
(ed. J.C. NORMAN) New York (1968).

- 10) BLOOM, W.L., FOWLER, N.O., WARD, J.A. und FRANCH, R.H.:
Hemodilution and changes in hemastasis induced
by dextran: An experiment in dogs with and with-
out plasma volume expansion.
J. Surg. Res. 3 (1963) 152.
- 11) BORNEFF, J.:
Hygiene.
Thieme-Verlag (1971) 122.
- 12) CLARK, A.J.:
The effects of alterations of temperature upon
the functions of the isolated hearts.
J. Physiol. (London) 54 (1920) 175.
- 13) DIETRICH, E.B., LIDDICOAT, J.E. und De BAKEY, M.:
Extracorporeal preservation of the beating heart.
J. Ass Adv. Med. Instr. 3 (1969) 237.
- 14) DEMICHOV, V.P.:
Erhaltung von Herz und Lungen im Augenblick
der Übertragung. In: Experimental Transplantation
of Vital Organs.
New York, Consultants Bureau (1962) 28.
- 15) DEMICHOV, V.P.:
Experimental transplantation of vital organs.
New York, Consultants Bureau (1962) 128.
- 16) DONALD, D.E.A.:
A method for perfusion of isolated lungs.
J. Appl. Physiol. 14 (1959) 1053.
- 17) FEDELESOVA, M., ZIEGELHÖFFER, A., HORECKY, J. und SISKÁ:
Metabolic changes of autoperfusing heart-lung
preparations.
Z. Exper. Chir. 6 (1973) 34.
- 18) GOLLWITZER-MEIER, Kl., KRAMER, D. und KRÜGER, E.:
Der Gaswechsel des suffizienten und insuffi-
zienten Warmblüterherzens.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 237 (1936) 68.
- 19) GOLLWITZER-MEIER, Kl. und KRÜGER, E.:
Zur Verschiedenheit der Herzenergetik und Herz-
dynamik bei Druck- und Volumenleistung.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 138 (1937) 279.

- 20) GRUBER, V.F.:
Elutersatz.
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York
(1968) 110.
- 21) HINT, H.:
Pharmakologie des Dextrans.
Dextran Symposium Krems, Österreich (1969).
- 22) HORVATH, S.M., HAMILTON, L.H., SPURR, G.B., ALLBAUGH,
E.B. und HUTT, P.K.:
Plasma expander and bleeding time.
J. Appl. Physiol. 7 (1955) 614.
- 23) HUMPHRIES, A.L.:
Organ perfusion: A review.
Proc. Roy. Soc. 97 (1925) 321.
- 24) KNOWLTON, F.P. und STARLING, E.:
The influence of variations in temperature and
blood-pressure on the performance of the iso-
lated heart.
J. Physiol. (London) 44 (1912) 206.
- 25) KOGA, Y., CARSTENSENH, E., SUJANSKI, E. und KANTROWITZ, A.:
Resuscitation and preservation of canine cadaver hearts.
Trans. Amer. Artif. Int. Organs Vol. 14 (1968) 140.
- 26) KUSCHINSKI, G., LÜLLMANN, H.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
Thieme-Verlag, 4. Aufl. 19 (1970) 62.
- 27) KUSCHINSKI, G. und LÜLLMANN, H.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
Thieme-Verlag, 4. Aufl. (1970) 197.
- 28) LANGENDORFF:
Untersuchungen am unbelebten Säugetierherzen.
Arch. Ges. Physiol. 66 (1897) 439.
- 29) LARGIADER, F.:
Organkonservierung.
Helv. Chir. Acta, Vol. 34 (1967) 501.
- 30) LARGIADER, F.:
Handhabung und Konservierung von Nieren-
transplantaten.
Helv. Chir. Acta, Vol. 34 (1967).

- 31) LIOTTA, D., ROSS, J.N., MAYFIELD, E., DARULKLAR, G.B.,
HILL, C.W., GHIDONI, J.J. und De BAKEY, M.E.:
Resuscitation and preservation of the canine
heart for homotransplantation: Preliminary
studies in: Organ Perfusion and Preservation
(ed. J.C. NORMAN) Appleton-Century Crofts,
New York (1968).
- 32) MARKWALDER, J. und STARLING, E.:
A note on some factors which determine the blood-
flow through the coronary circulation.
J. Physiol. 47 (1913/14) 275.
- 33) Mc GINTY, D.A. und MILLER, A.T.:
Studies on the coronary circulation.
II The absorption of lactate acid and glucose
and the gaseous exchange of heart muscle.
Am. J. Physiol. 103 (1933) 712.
- 34) NITSCHKE, J., KORB, G., STRUCK, E., REITER, H.J.,
KÖNIG, C.H., MERLE, D. und HAMELMANN, H.:
Morphologische Organveränderungen nach normo-
thermer Leberkonservierung innerhalb eines auto-
perfundierenden Herz-Lungen-Leber-Präparates am
Schwein.
Vortrag auf dem 1. Internationalen Lebertransplan-
tationssymposium, Bonn, 23. - 25. Juni 1972.
- 35) PERRY, V.P.:
Review of methods of organ perfusion and culture.
In: microcirculation, perfusion and transplan-
tation of organs.
Academic Press, New York (1970) 270.
- 36) RINGER, S.:
Concerning the influence exerted by each of the
constituents of the blood on the contraction of
the ventricle.
J. Physiol. (London) 3 (1881) 380.
- 37) ROBICSEK, M.D., SANGER, P.W., DAUGHERTY, H.K.,
GULLUCCI, V. und BAGBY, E.:
Simple method of keeping the heart "alive"
outside the body for prolonged periods.
Surgery 53 (1963) 525.
- 38) ROBICSEK, M.D., LESAGE, A., SANGER, P.W., DAUGHERTY, H.K.,
GALLUCCI, V. und BAGBY, E.:
Transplantation of "live" hearts.
Amer. J. Cardiol. 20 (1967) 803.

- 39) ROBICSEK, M.D., PRUITT, J.R., SANGER, P.W.,
DAUGHERTY, H.K., MOORE, Mc, K. und BAGBY, E.:
The maintenance of function of the donor heart
in the extracorporal stage and during trans-
plantation.
Ann. Thorac. Surg. 6 (1968) 330.
- 40) ROEBER, G.:
Handhabung und praktische Gesichtspunkte der
Fibrinolysetherapie. In: Med. Klin. 64 (1969) 1683.
- 41) SCHETTLER, G. und FRANZ, H.E.:
Organtransplantation und künstliche Organe.
Dtsch. med. J. 20 (1969) 205.
- 42) SCHIMASSEK, H. und MITZKAT, H.J.:
Über die spezifische Wirkung des Glukagon auf
den Embden-Meyerhof-Kette in der Leber. Versuche
an der isolierten Rattenleber.
Biochem. Z. 337 (1963) 510.
- 43) STARLING, E.:
Principals of human physiology (3d. ed.)
Philadelphia, Lea & Febinger (1920) 713.
- 44) STARLING, E. und VERNEY, E.B.:
The secretion of urine as studied on the isolated
kidney.
Proc. Roy. Soc. 97 (1925) 321.
- 45) STRUCK, E.:
Die Anwendung einer neuen pulsatilen Pumpe zur
intravenösen Infusion mit intermittierender An-
zeige des zentralen Venendruckes.
Res. exp. Med. 157 (1972) 184.
- 46) STRUCK, E., KÖNIG, C., MERLE, D. und HAMELMANN, H.:
The autoperfusing heart-lung-liver preparation.
Apossibility for normothermic liver prservation.
Abstracts of the 7 th Congress of European So-
ciety for Experimental Surgery, Amsterdam (1972).
- 47) TÖRÖK, B., RÖTH, E. und SZMOLENZKY, T.:
Experimentelle Wiederbelebung der Kadaverherzen
bei Hunden. I Die Charakterisierung der Funktion
von autoperfundierten Herz-Lungen-Präparaten.
Z. Exp. Chir. 5 (1972) 87.

- 48) TESTFIBEL:
C.F. Boehringer und Söhne GmbH, Mannheim (1968).
- 49) VEITH, F.J., PANOSSIAN, A., NEHLSSEN, S.L., DEYSINE, M.,
THELMO, W.L., BECKER, N.H. und HAGSTRÖM, J.W.C.:
Factors influencing morphologic and functional
integrity in isolated perfused lungs in: Organ
Perfusion and Preservation (ed. J.C. NORMAN)
Appleton, New York (1968) 45.
- 50) YAMADA, T., BOSHER, L.H.Jr. und RICHARDSON, G.M.:
Observations on the autoperfusing heart-lung-
preparation.
Tr. Am. Soc. Art. Intern. Organs 11 (1965) 192.

L e b e n s l a u f

Als einziges Kind der Eheleute Georg Merle und Else, geb. Womelsdorf, wurde ich am 21. September 1946 in Alerts-
hausen, Kreis Berleburg, geboren.

Mein erstes Lebensjahr verbrachte ich an meinem Geburts-
ort. 1947 zogen meine Eltern nach Wiera, Kreis Ziegenhain.

1953 - 1957 besuchte ich die Volksschule in Wiera. 1957 bestand ich die Aufnahmeprüfung in dem neusprachlichen Gym-
nasium in Treysa. Am 4. November 1966 legte ich die Reife-
prüfung ab.

Für das Wintersemester 1966/67 bewarb ich mich um Zu-
lassung zum Medizinstudium an der Universität Marburg/L.
Aufgrund der Zulassungsbeschränkung wurde mein Gesuch ab-
gelehnt. Nach einem Semester naturwissenschaftlichen Stu-
diums begann ich nach einer Wechselprüfung mit dem Studium
der Humanmedizin. Im Herbst 1968 bestand ich die natur-
wissenschaftliche Vorprüfung, nach weiteren 3 Semestern
die ärztliche Vorprüfung.

Mein medizinisches Staatsexamen legte ich am 31.7.1973
in Marburg ab. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent
tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Ammon, Arndt, Braasch, Bichler, Bode, Bommer, Dölle, Eissner, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Gerdes, Geissler, Gottesbüren, Golenhofen, Graul, Hamelmann, Hardewig, Heß, Hensel, Hort, Ihm, Jakob, Kaffarnik, Karlson, Köbler, Koch, Koecke, Lange, Lüthke, Mahr, Mannheim, Masserat, Menge, Müller, Oehmig, Petry, Reim, Richter, Rieken, Rodeck, Rupec, Schmitz-Moormann, Schmidt, Seidel, Sekeris, Schleyer, Siegert, Solcher, Strohmeier, Thoenes, Vakilzadeh, Wendt, Wesemann, Wiegandt und Zilliken.

Herrn Professor Dr. med. E. Struck danke ich für die Überlassung des Themas, für seine wertvollen Anleitungen und seine Hilfe.

Mein besonderer Dank gilt dem Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik, Herrn Professor Dr. med. H. Hamelmann, mit dessen Zustimmung diese Untersuchungen durchgeführt werden konnten.

